

**AKTIVITÄT DER ADENINPHOSPHORIBOSYLTRANSFERASE
(APRT) BEI PATIENTEN MIT
NIERENVERSAGEN UND UROLITHIASIS**

AUREL STENZEL

1986

AUS DER
MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

DIREKTOR: PROF. DR. N. ZÖLLNER

AKTIVITÄT DER ADENINPHOSPHORIBOSYLTRANSFERASE
(APRT) BEI PATIENTEN MIT NIERENVERSAGEN UND
UROLITHIASIS

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER GESAMTEN MEDIZIN
AN DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

VORGELEGT VON
AUREL STENZEL
AUS
LINDENBERG

1986

MIT GENEHMIGUNG DER MEDIZINISCHEN
FAKULTÄT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

BERICHTERSTATTER: PROF. DR. W. GRÖBNER

MITBERICHTERSTATTER: PROF. DR. N. ZÖLLNER

DEKAN: PROF. DR. W. SPANN

TAG DER MÜNDLICHEN
PRÜFUNG:

8. April 1986

Die vorliegende Arbeit hätte ohne die Unterstützung, die ich von vielen Seiten erfahren habe, nicht entstehen können.

Danken möchte ich insbesondere meinen Lehrern und Betreuern, Herrn Prof. Dr. W. Gröbner, Dr. Banholzer, Dr. Löffler und Dr. Reiter, sowie Frau Prof. Dr. Simmonds, deren Forschungen die Grundlage für diese Arbeit bildeten und der ich wertvolle Hinweise verdanke.

allen Mitarbeitern des Isotopenlabors der Medizinischen Poliklinik der Universität München, vor allem Frau Gamulin, die mich in die praktische Laborarbeit einführte

der Urologischen Poliklinik der Technischen Universität München, insbesondere Dr. Hegemann, der mich tatkräftig unterstützte,

Frau Hamp für die Geduld und die Genauigkeit bei der Durchführung der Schreibarbeiten, meinen Eltern für die finanzielle und moralische Unterstützung sowie meiner Freundin Margaretha für mancherlei Hilfe und etliche Entbehrungen.

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung	S. 1
2.	Patienten, Materialien und Methoden	S. 11
2.1	Patienten	S. 11
2.1.1	Das Normalkollektiv	S. 11
2.1.2	Das Dialysekollektiv	S. 12
2.1.3	Das gemischte Steinkollektiv	S. 13
2.1.4	Das Harnsäurestein-Kollektiv	S. 14
2.1.5	Das Cystinstein-Kollektiv	S. 14
2.1.6	Das Calciumstein-Kollektiv	S. 15
2.1.6.1	Laborchemische Parameter	S. 15
2.1.6.2	Einteilung in metabolische Untergruppen	S. 17
2.1.6.3	Einteilung nach der Medikation	S. 20
2.1.6.4	Einteilung nach metabolischen Untergruppen und Medikation	S. 22
2.2	Bestimmung der APRT-Aktivität in Erythrocytenlysaten	S. 24
2.2.1	Gewinnung und Weiterverarbeitung der Proben	S. 24
2.2.2	Mikroradiochemische Bestimmung der APRT-Aktivität	S. 25
2.3	Statistische Methoden	S. 28
2.3.1	Beschreibende Statistik	S. 28
2.3.2	Statistische Prüfverfahren	S. 30
2.3.3	Praktische Durchführung	S. 33
3.	Ergebnisse	S. 34
3.1	Vergleich von Normalkollektiv, Dialyse- kollektiv und Steinkollektiv	S. 34

II.

3.1.1	Das Normalkollektiv	S. 34
3.1.1.1	Familienuntersuchung bei einer Person des Normalkollektivs	S. 35
3.1.2	Das Dialysekollektiv	S. 37
3.1.3	Das Steinkollektiv	S. 37
3.1.4	Vergleich der drei Kollektive	S. 39
3.2	Unterteilung des Steinkollektivs nach Steinarten	S. 39
3.2.1	Das gemischte Steinkollektiv	S. 39
3.2.2	Cystinsteine	S. 41
3.2.3	Calciumhaltige Steine	S. 41
3.2.4	Vergleich der verschiedenen Steinkollektive	S. 42
3.3	Nähere Untersuchung des Calcium- steinkollektivs	S. 44
3.3.1	Korrelation der APRT-Aktivität mit laborchemischen Parametern	S. 44
3.3.2	Vergleich der verschiedenen metabolischen Untergruppen	S. 45
3.3.3	Einfluß der Medikation	S. 48
3.3.3.1	Patienten vor/nach Medikation	S. 48
3.3.3.2	Vergleich der nach Medikation gruppierten Patienten	S. 49
3.3.4	Einteilung nach metabolischen Untergruppen und Medikation	S. 51
4.	Diskussion	S. 53
	Anhang: Fig. 1 - 10	S. 72
	Abkürzungsverzeichnis	S. 83
	Literaturverzeichnis	S. 84



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Einleitung

Die Nephrotoxizität des Adeninmetaboliten 2,8-Dihydroxyadenin (2,8 DHA) wurde - anlässlich von Adeninfütterungsversuchen bei Tieren - erstmals 1898 festgestellt (Minkowski, O., 1898, [40]).

2,8 DHA entsteht durch die vom Enzym Xanthinoxidase (E.C. 1.2.3.2) vermittelte Oxydation von Adenin über das Zwischenprodukt 8-Hydroxyadenin (Wyngaarden, J.B. et al., 1957, [66]).

Als kritische Schwelle für die exogene Adeninzufuhr gelten 10 mg/kg Körpergewicht/die. Unter dieser Schwelle wird bei allen Spezies kaum 2,8 DHA gebildet (Shields C.E. et al., 1970, [52]; Klain G. J. et al., 1970, [35]; Lindblad G. et al., 1973, [37]). Auch die Adeninspiegel liegen unter diesen Bedingungen bei gesunden Individuen extrem niedrig: Gemessen wurden zwischen $0,07 \mu \text{ mol/l}$ und $1,13 \mu \text{ mol/l}$ im Blut (Hamet M., 1975, [25]; Mills C.G. et al., 1976 [39]; De Verdier C.H. et al., 1977, [65]) und nicht nachweisbare Spuren (Simmonds, H.A. et al., 1978, [59]) oder weniger als $10 \mu \text{ mol}$ in 24-h-Urin (Kelley, W.N. et al., 1970, [34]).

Mit steigender exogener Adeninzufuhr erscheinen im Urin und im Tubuluslumen 2,8 DHA-Kristalle (Minkowski O., 1898, [40]). Bei hohen Dosen über längere Zeit kommt es neben der massiven Bildung von 2,8 DHA-Kristallen im Tubuluslumen auch zur Ablagerung der Kristalle im Interstitium und in der Folge zu einer abakteriellen interstitiellen Nephritis mit fortschreitendem Nierenversagen (Lindblad G. et al., 1973, [37]).

Diese im Tierversuch festgestellten Erscheinungen zeigen sich auch beim Menschen. So berichtet z.B. J.S. Falk, 1972, [21] von entsprechenden Fällen bei Patienten, die im Rahmen von Bluttransfusionen (dem Blut war - wie in Schweden und Teilen der USA üblich - zur Haltbarmachung Adenin zugesetzt) Dosen von ca. 100 mg Adenin pro kg Körpergewicht erhalten hatten.

2,8 DHA-Nephropathien zeigten sich (trotz gleichzeitiger Gabe eines Xanthinoxidasehemmers) auch bei Lesch-Nyhan-Patienten, bei denen versucht wurde, die de novo Purinsynthese durch Gabe von Adenin zu hemmen (Demus A. et al., 1973, [18] ; Ceccarelli M. et al., 1974, [10a]).

Neben der exogen ausgelösten Adeninüberladung kann - und damit befaßt sich die vorliegende Arbeit - auch ein endogener Faktor zu 2,8 DHA-Nephropathien führen. Es handelt sich dabei um einen Defekt der Adeninphosphoribosyltransferase (APRT, EC 2.4.2.7).

Der Defekt wurde - ungewöhnlich für einen Enzymdefekt - zunächst als partieller Defekt bzw. in seiner heterozygoten Form gefunden (Kelley W.N. et al., 1968, [32]). Die Entdeckung war ein Zufallsbefund im Rahmen einer Untersuchung des APRT-"Schwester-enzym" Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase (HGPRT, EC 2.4.2.8) bei Familien mit atypischer Gicht oder Hyperuricämie.¹⁾

Ein knappes Jahrzehnt später beschrieben zwei unabhängig voneinander arbeitende Forschungsteams die ersten homozygoten Fälle (Cartier P. et al., 1974 [9]); Simmonds, H.A. et al., 1976 [56]), denen in relativ knapper Folge weitere folgten (Van Acker K.J. et al., 1977, [1] ; Barratt T.M. et al., 1979, [7] ; Simmonds H.A., 1979, [53] ; Hamet M., et al., 1979, [26] ; Simmonds H.A. et al., 1980 [57] ; Takenchi H., et al., 1980, [63] ; Cartier P. et al., 1980 [10] ; Schabel F. et al., 1980, [49] ; Joost J. et al., 1980, [31] ; Gault M. H. et al., 1981, [24] ; Noro T. et al., 1982, [42]).

1)

Der demzufolge anfänglich vermutete Zusammenhang zwischen partiellem APRT-Mangel und Gicht (Kelley W.N. et al., 1968, [32]; Delbarre F. et al., 1974 [17]) bestätigte sich im folgenden allerdings nicht (Johnson L.A. et al., 1977 [30]; Fox L.H. et al., 1977, [22] ; Van Acker K.J. et al., 1977, [1] ; Simmonds H.A., 1979 [53]).

Die klinische Expression des Defektes erwies sich dabei als sehr variabel. Das Spektrum reicht von offensichtlich asymptomatischen Individuen (Van Acker K.J. et al., 1977, [1]) über rezidivierende 2,8 DHA Steinbildung und/oder chronische interstitielle Nephritis (Simmonds H.A. et al., 1980, [57]) bis hin zum akuten Nierenversagen mit urämischem Koma und nachfolgender Dialysepflichtigkeit (Simmonds H.A., 1979, [53]; Schabel F. et al., 1980, [49]).

Der Fall eines makrobiotisch und damit sehr adeninreich (Clifford A.J. et al., 1975, [12]) ernährten Kindes, das eine dauernde Einschränkung der Nierenfunktion erlitt, gibt Hinweise darauf, daß die Schwere der klinischen Manifestation des Defektes von den Ernährungsgewohnheiten (der exogenen Adeninzufuhr) abhängt (Simmonds H.A., 1979, [53]).

Zurückgeführt werden konnten die beobachteten Nephropathien jeweils auf 2,8 DHA-Kristalle, entweder im Interstitium der Niere (wo sie chronische Entzündungen mit Fibrosierung und vereinzelte Riesenzellreaktionen auslösten) oder im Tubuluslumen (mit Gries- bzw. Steinbildung).

Als Grund für die Nephrotoxizität von 2,8 DHA wird seine extreme Unlöslichkeit bei jedem pH angenommen. Sie beträgt in Wasser bei pH 6,5 nur $1,53 \pm 0,04$ mg/l (ca. 9×10^{-6} M), im Urin in vitro $2,68 \pm 0,84$ mg/l bei pH 5,0 und $4,97 \pm 1,49$ mg/l bei pH 7,8 (Peck C.C. et al., 1977, [45]). In vivo konnten dagegen bei asymptomatischen Homozygoten Urinspiegel von ca. 80 mg/l (ca. 0,5 mmol/l) festgestellt werden, und es wird vermutet, daß die unterschiedliche Fähigkeit, eine 2,8 DHA-Übersättigung im Urin aufrechtzuerhalten, die unterschiedliche klinische Expression beeinflußt (Simmonds H.A. et al., 1977, [55]).

2,8 DHA ist im Serum zum größten Teil an Eiweiß gebunden (Stern I.J. et al., 1972, [60]) und wird von der Niere aktiv sezerniert (Ericson A. et al., 1980, [20]). Diesen Umständen wird es zugeschrieben, daß 2,8 DHA in vivo außerhalb der Niere offensichtlich keine toxischen Wirkungen entfaltet.

Wie kommt es nun beim APRT-Defekt zu der potentiell Nephropathien auslösenden Erhöhung der 2,8 DHA-Spiegel?

APRT, ein Dimer mit einem Molekulargewicht von ca. 38.000 Daltons (Holden J.A. et al., 1979, [28]), findet sich insbesondere im Cytoplasma von kernhaltigen Zellen (Arnold W.J. et al., 1978, [3]) und katalysiert dort die Bildung von Adenosin-5-monophosphat (AMP) aus Adenin und 5-Phosphoribosylpyrophosphat (PRPP).

Die Reaktion unterliegt einer relativ unspezifischen Rückkoppelungshemmung durch AMP, JMP und GMP und ist nicht sehr pH-abhängig (Thomas C.B. et al., 1973, [64]). Sie dient der Wiederverwertung von Adenin (salvage pathway), ist aber nicht kritisch für die Zellökonomie, z.B. für die normale Lymphocytenfunktion (Stevens W.J. et al., 1979, [61]).

Für den Purinstoffwechsel des Menschen und seine Regulation scheint der Adenin-"salvage pathway" insgesamt nicht zentral zu sein (Simmonds H.A. et al., 1980, [57]; Seegmiller J.E., 1976, [51]), was auch dadurch unterstrichen wird, daß homozygote Träger des APRT-Defektes außer der erhöhten renalen Exkretion von Adenin und seiner Metaboliten keine auffälligen Laborparameter und keine 2,8 DHA-unabhängigen klinischen Manifestationen zeigen.

Die erhöhte renale Exkretion von Adenin bzw. seiner Metaboliten steigert die gesamte Ausscheidung von Endprodukten des Purinstoffwechsels (Harnsäure, Oxypurine und ihre Vorläufer, Adenin und seine Derivate) nicht wesentlich. Sie liegt bei 0,05 - 0,1 mmol pro kg Körpergewicht/24 h. Eine drastische Veränderung zeigt jedoch der Anteil, den Adenin und seine Derivate an der Gesamtausscheidung haben.

Bei gesunden Individuen ist dieser Anteil praktisch Null, beim kompletten APRT-Mangel steigt er auf 20 - 30 % an (Barratt T.M. et al., 1979 [7] ; Cartier P., et al., 1980 [10] ; Simmonds H.A. et al., 1977 [55]). Innerhalb von 24 h werden dann bis zu 100 mg (750 μ mol) Adenin bzw. Adeninmetaboliten mit dem Urin ausgeschieden.

Von dieser gesamten Adeninexkretion entfallen ca. 60 % auf 2,8 DHA, der Anteil von Adenin beträgt ca. 40 %, 8-Hydroxyadenin findet sich nur in Spuren (Van Acker K.J. et al., 1977 [1] , Simmonds H.A. et al., 1977 [55] ; Cartier P. et al., 1980 [10]).

Durch Gabe des Xanthinoxidasehemmers Allopurinol lassen sich diese Proportionen so verschieben, daß Adenin den größten Teil stellt (Van Acker K.J. et al., 1977 [1] ; Barratt T.M. et al., 1979 [7] ; Cartier P. et al. 1980, (10); Simmonds H.A. et al., 1977 (55)). Allopurinol stellt somit einen Grundpfeiler in der Therapie des APRT-Defektes dar.

Obwohl eine adeninarmer Diät - wie oben erwähnt - die klinische Symptomatik verbessern kann, entstammt das verstärkt ausgeschiedene Adenin vorwiegend endogenen Quellen, insbesondere dem in sich regenerierendem Gewebe ablaufenden Polyaminstoffwechsel (Janne J. et al., 1978 [29] ; Simmonds H.A., 1979 [53] ; Simmonds H.A. et al., 1980 [57]).

Die Adeninmetaboliten im Urin können z.B. mit Hilfe der High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) ¹⁾ oder der Isotachophorese (Simmonds H.A. et al., 1978 [59]) identifiziert werden.

2,8 DHA Steine (grau, brüchig) unterscheiden sich makroskopisch von den eher gelblichen, harten Harnsäuresteinen, lassen sich aber mit üblichen chemischen Routineverfahren (Murexidprobe, alkalisches UV-Spektrum, thermogravimetrische Analyse) nicht von diesen differenzieren. Da sie zudem die gleiche Strahlendurchlässigkeit aufweisen wie Harnsäuresteine, verwundert es nicht, daß ein Großteil der bisher gefundenen 2,8 DHA Steine zunächst als Harnsäuresteine mißdeutet wurde. ²⁾

Die korrekte Diagnose ist möglich bei Untersuchung des Steines im alkalischen und sauren UV-Spektrum, mit Infrarot, Massenspektrometrie, Röntgenkristallographie oder Laser (Reveilland R.J. et al., 1979 [47]; Schabel F. et al., 1980 [49]; Joost J. et al., 1981 [31]; Daudon M. et al., 1982 [14]).

Einen direkten Zugriff auf den Defekt ermöglicht die Messung der APRT-Aktivität in lysierten Erythrocyten. Wird das Ergebnis nicht durch vorangegangene Bluttransfusionen verfälscht, zeigen homozygote Individuen nur einen Bruchteil der üblicherweise festgestellten Aktivität.

Ein Vorteil dieser auch hier verwendeten Methode ist es, daß sie es als einzige gestattet, auch heterozygote Individuen zu identifizieren.

1)
Zu beachten ist jedoch, daß methylierte Xanthine (z.B. bei nicht coffeinfreier Diät) falsch positive Peaks ergeben können.

2)
Tatsächlich können auch vorwiegend aus 2,8 DHA bestehende Steine einen Harnsäureanteil (bis zu 20 %) enthalten.

Den meisten Berichten zufolge findet man bei diesen Individuen außer einer auf ca. 25 % ¹⁾ des Normalwertes verminderten APRT-Aktivität keine klinischen oder biochemischen Auffälligkeiten (Fox I.H. et al., 1973 [23] und 1977 [22]; Kelley W.N. et al., 1968 [32]; Van Acker et al., 1977 [1]; Dean B. et al., 1978 [15]; Gault M.H. et al., 1981 [24]).

Insbesondere japanische Autoren verweisen dahingegen auf Fälle von 2,8 DHA-Lithiasis bei Individuen, die 10 - 20 % der normalen Aktivität aufweisen (Kuroda M. et al., 1980 [36]; Takenchi H. et al., 1981 [62]; Sakomoto K. et al., 1981 [48]) und schlußfolgern, "that there is no significant difference on the mechanism of dihydroxyadenine stone formation between complete defect and markedly decreased activity of APRT" (Sakomoto K. et al., 1981 [48] S. 278).

Berichtet wird auch von anderen Steinepisoden, darunter einem Calciumoxalatstein (Barratt T.M. et al., 1979 [7]).

Eine eventuelle klinische Relevanz der heterozygoten Form des Defektes wäre allein schon deshalb bedeutungsvoll, weil diese Ausprägung relativ häufig sein soll. In verschiedenen Bevölkerungsstudien wurde ihre Inzidenz auf 0,4 - 1 % geschätzt (Kelley W.N. et al., 1968 [32]; Johnson L.A. et al., 1977 [30]; Fox I.H. et al., 1977 [22]).

1)

Eine Möglichkeit, die Verminderung auf 25 % (statt auf die üblichen 50 %) zu erklären, liegt in der Dimerstruktur des Enzyms. Wird jede der beiden identischen Untereinheiten von einem Allel kodiert und vereinen sich die Untereinheiten hinterher in einem Zufallsprozeß zum voll katalytisch wirksamen Aggregat, wird ein falsch kodierendes Allel 75 % aller Aggregate "unbrauchbar" machen (Kelley W.N. et al., 1968 [32]).

Beim festgestellten Vererbungsmodus (autosomal rezessiv mit hoher Penetranz) ergibt sich daraus nach dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht für die homozygote Form eine rechnerische Häufigkeit von 1 : 100.000 oder mehr (Van Acker K.J. et al., 1980

[1]; Cartier P. et al., 1974 [9], Schabel F. et al., 1980 [49]; Joost J. et al., 1981 [31]; Fox I.H. et al., 1973 [23], Kelley W.N. et al., 1968 [32]; Johnson L.A. et al., 1977 [30]; Emmerson B.T. et al., 1976 [19]; Murken J.D. et al., 1979, S. 119 [41]). Die Gesamtzahl der in der Literatur berichteten Fälle (bis 1983: 18 Homozygote) übersteigt damit nur unwesentlich die Zahl der in einer Millionenstadt zu erwartenden Fälle.

Gründe für diese Diskrepanz könnten sein:

1. Der Defekt ist tatsächlich nicht so häufig wie angenommen
2. Das breite Spektrum der klinischen Manifestationen des Defektes von asymptomatisch (Van Acker K.J. et al., 1977 [1]; Cartier P. et al., 1980 [10]) bis zu (unbehandelt) letalen Verläufen (Simmonds H.A. et al., 1980 [57]; Schabel F. et al., 1980 [49]), möglicherweise auch Tod in utero, worauf die Häufung spontaner Aborte in einer betroffenen Familie hinweist (Van Acker K.J. et al., 1977 [1]; Van Acker K.J. et al., 1980 [2]).
3. Die Gefahr von Fehldiagnosen, insbesondere die Verknennung von 2.8 DHA Steinen als Harnsäuresteinen und die Maskierung fehlen der APRT-Aktivität durch vorhergegangene Bluttransfusionen.

Soweit die Ausgangslage bei Beginn der vorliegenden Arbeit. Sie versucht in den geschilderten Problemkomplex durch eine Screening-Untersuchung bei auf APRT-Mangel "verdächtigen" Personen einzugreifen.

Den klinischen Manifestationen des Defektes entsprechend, sind dies Urolithiasispatienten sowie Niereninsuffizienzen ungeklärter bzw. nicht sicher geklärter Genese. Innerhalb dieses Personenkreises müßten bisher nicht erkannte Fälle von vollständigem APRT-Mangel bzw. eventuell doch klinische Relevanz besitzende heterozygote Fälle häufiger zu finden sein als in der Normalbevölkerung.

Im Verlauf der Untersuchung ergaben sich dann Ergebnisse, die eine Modifikation der ursprünglichen Fragestellung erforderten. Es zeigte sich, daß niereninsuffiziente Patienten systematisch höhere (Becher H.J. et al., 1980 [8] ; Banholzer P. et al., 1982 [6]) und Urolithiasispatienten eher niedrigere (Banholzer P. et al., 1982 [6]) APRT-Aktivitäten aufweisen als ein Normalkollektiv, d.h. vor die Screeninguntersuchung bei "verdächtigen" Personen war die Aufgabe geschaltet worden, eventuell neue Standards für die betreffenden Personenkreise festzulegen.

Geht eine Einschränkung der Nierenfunktion Hand in Hand mit einem Anstieg der gemessenen APRT-Aktivität, könnte ein APRT-Mangel (zumindest in seiner heterozygoten Ausprägung) durch eine eventuell von ihm ausgelöste Niereninsuffizienz maskiert werden, d.h. die Feststellung, welche Aktivität dieser Personenkreis üblicherweise aufweist, ist von großer Bedeutung und muß erfolgen, bevor bei ausgewählten Personen aus diesem Kreis nach APRT-Defekten gesucht wird.

Entsprechendes gilt auch für die Urolithiasispatienten. Niedrige APRT-Aktivitäten ohne Nachweis von 2,8 DHA Steinen könnten bedeuten, daß Urolithiasis (oder zumindest bestimmte Formen der Steinerkrankung) zu einem Sinken der gemessenen APRT-Aktivität führen, oder daß umgekehrt eine niedrige APRT-Aktivität einen Risikofaktor für Urolithiasis (bzw. für bestimmte Formen der Urolithiasis) darstellt.

Um diesen Fragen näherzukommen, muß zunächst festgestellt werden, ob Urolithiasispatienten tatsächlich eine signifikant niedrigere APRT-Aktivität aufweisen und ob sich gegebenenfalls ein Parameter bzw. eine Untergruppe isolieren läßt, der sich diese Verminderung zuschreiben läßt.

2. Patienten, Materialien und Methoden

2.1 Patienten

Die vorliegende Arbeit baut auf sechs verschiedenen Patientenkollektiven auf. Zusätzlich wird noch die Familie eines Patienten mit stark erniedrigter APRT-Aktivität untersucht.

Die sechs Grundkollektive werden z.T. noch in Untergruppen zergliedert, bzw. zu Obergruppen zusammengefaßt, so daß insgesamt mehr als sechs Gruppen erscheinen.

Von den angesprochenen Grundkollektiven lag eines - das sehr umfangreiche Normalkollektiv - zu Beginn dieser Arbeit bereits vor. Es wird hier zu Referenzzwecken verwandt. Alle anderen Kollektive wurden im Rahmen der Arbeit zusammengestellt und gemessen.

2.1.1 Das Normalkollektiv

Das Normalkollektiv ($n = 524$) wird gebildet von 524 unausgewählten Patienten der Medizinischen Poliklinik der Universität München (Leitung: Prof. Dr. N. Zöllner). Dort wurde, unter der Leitung von Prof. Dr. W. Gröbner, auch die Messung der APRT-Aktivität durchgeführt.

Die Ergebnisse wurden bereits vorgestellt auf dem IV. International Symposium on Human Purine and Pyrimidine Metabolism, Maastricht, June 13 - 18, 1982 (Banholzer P. et al., 1982 [6]).

2.1.2 Das Dialysekollektiv

Das Dialysekollektiv (n = 139) umfaßt 139 Patienten mit chronischem, dialysepflichtigem Nierenversagen.

Die Patienten stammen aus den Dialysezentren Ravensburg und Friedrichshafen (Dr. Breck, Dr. Piazzolo) sowie den Dialyseabteilungen des Krankenhauses Tutzing (Prof. Dr. Doppelstein), des Ärztehauses München-Harlaching (Dr. Henrik von Dehn) und des Städtischen Krankenhauses München-Schwabing (Prof. Kuhlmann).

Allen beteiligten Institutionen und Personen sei an dieser Stelle nochmals für ihre freundliche Kooperationsbereitschaft gedankt.

Zu Beginn der Untersuchung wurden die Patienten nach der Genese ihrer Niereninsuffizienz selektiert. Bevorzugt in das Kollektiv aufgenommen wurden Patienten, die durch APRT-Mangel insuffizient geworden sein könnten (z.B. interstitielle Nephritis ungeklärter Genese, Obstruktion der ableitenden Harnwege durch verdächtiges Material), ausgeschlossen wurden klare Ursachen anderer Art (z.B. Phenacetin-Niere, Cystennieren).

Mit der Beschränkung auf potentiell auf APRT-Mangel verdächtige Dialysepatienten konnte bei gleicher Anzahl von Messungen die Rolle des APRT-Mangels für die Genese der Niereninsuffizienz effektiver festgestellt werden als ohne diese Beschränkung.

Nachdem jedoch die ersten Messungen überraschend hohe APRT-Aktivitäten ergaben, wurde die Beschränkung aufgehoben, um die Vermutung, daß Dialysepatienten regelmäßig erhöhte Aktivitäten aufweisen, durch hohe Fallzahlen stützen bzw. in Zweifel ziehen zu können.

Insgesamt entsprechen die Ursachen, die bei den ausgewählten Patienten zum Nierenversagen geführt haben, also in etwa dem üblichen Spektrum, nur mit einem leichten "bias" zu nicht zweifelsfrei aufgeklärten Fällen.

Eine Auswahl nach anderen Kriterien (z.B. Geschlecht, Labordaten) fand nicht statt. Ein großer Teil dieses Kollektivs (127 von jetzt 139 Patienten) wurde auf dem oben genannten Kongreß bereits vorgestellt.

2.1.3 Das gemischte Steinkollektiv

Das gemischte Steinkollektiv ($n = 41$) umfaßt 41 Träger von Nierensteinen unterschiedlicher Art. Es handelt sich um Patienten der Medizinischen Poliklinik der Universität München, die bereits Steinabgänge hatten, als Nebenfund einen Stein aufwiesen oder deren aktuelle Symptomatik auf einen Stein zurückzuführen war.

Die Natur des Steines bzw. die Frage, ob seine Zusammensetzung überhaupt bekannt war, hatte keinen Einfluß auf die Eingliederung in das Kollektiv.

Auch dieses Kollektiv wurde bereits auf dem obengenannten Symposium vorgestellt.

2.1.4 Das Harnsäurestein-Kollektiv

Das Harnsäurestein-Kollektiv ($n = 16$) umfaßt 16 Patienten der Urologischen Poliklinik der TU München (Leitung: Prof. Dr. W. Mauermayer). Es handelt sich um Patienten, bei denen bereits Harnsäuresteine abgegangen waren, bei denen die erfolgreiche medikamentöse Auflösung für Harnsäuresteine sprach oder deren aktuelle klinische Symptomatik (Kolik) aufgrund von anamnestischen Hinweisen und Untersuchungsbe-
funden (insbesondere Infusionsurogramme) auf Harnsäuresteine bzw. Uratverstopfung zurückgeführt wurde.

2.1.5 Das Cystinstein-Kollektiv

Das Cystinstein-Kollektiv ($n = 3$) umfaßt 3 Patienten, die an der homozygoten Form der Cystinurie leiden und in der Vergangenheit Cystinsteine gebildet haben.

Die Patienten werden betreut von der Steinsprechstunde der Urologischen Poliklinik der TU München (Dr. Hegemann, Dr. Pfab), denen an dieser Stelle nochmals herzlich für ihr Entgegenkommen und ihre tatkräftige Unterstützung gedankt werden soll.

2.1.6 Das Calciumstein-Kollektiv

Es umfaßt 60 Patienten mit Calcium-Urolithiasis. Alle sind Patienten der Steinsprechstunde der Urologischen Poliklinik der TU München, anamnestisch gut dokumentiert und metabolisch gründlich durchuntersucht, einschließlich eines oralen Calciumbelastungstests nach Pak (1975 [43]) in der Modifikation nach Schwille (Scholz D. et al., 1980 [50]).

Von der Steinsprechstunde übernommen wurden zwei Arten von Informationen über diese Patienten:

- einzelne Rohdaten
- die Einteilung der Patienten in verschiedene metabolische Untergruppen.

2.1.6.1 Laborchemische Parameter

Die in die vorliegende Arbeit direkt eingehenden Rohdaten umfassen neben Angaben zur Medikation die wichtigsten bei Steinerkrankungen eventuell auffälligen laborchemischen Parameter.

Ausgewertet wurden:

I. Im 24-Stunden-Urin nach normaler Hauskost:

- Calcium in mg pro kg Körpergewicht
- anorg. Phosphat
- Harnsäure
- Citrat
- Magnesium
- Natrium
- Oxalat
- Kreatinin in mg pro kg Körpergewicht
- Harnstoff-N
- Cyclo-AMP in nmol pro 100 ml GFR

Beim Patienten, der morgens mit dem Sammelurin nüchtern in die Klinik kommt, wird neben dem pH-Wert des Spontanurins noch bestimmt:

II. Im Nüchternurin (2-Stunden-Sammelperiode nach Trinken von 600 ml destilliertem Wasser):

- Fraktionelle Calciumclearance (auf die Kreatininclearance bezogene Calciumclearance)
- Fraktionelle Phosphatclearance
- Fraktionelle Harnsäureclearance
- Quotient Calcium/Kreatinin

III. Im Serum:

- Harnstoff-N
- Kreatinin
- Harnsäure
- Chlorid
- Natrium
- Kalium
- Calcium (gesamt)
- P (anorganisch)
- Protein (gesamt)
- AP (optimiert)

In den lysierten Erythrocyten dieser Blutprobe wird die APRT-Aktivität bestimmt.

Die übernommenen Werte wurden bestimmt mit SMA 12 Autoanalyser, Flammenphotometrie (Urinelektrolyte), c-AMP mit Becton-Dickinson RIA, Oxalat enzymatisch (vgl. Hegemann et al., 1982 [27]).

2.1.6.2 Einteilung in metabolische Untergruppen

Für die Einteilung in metabolische Subgruppen - entlang der Konzepte von Albright (1953 [4]), Pak (1975 [43], 1980 [44]) und Schwille (Scholz D. et al., 1980 [50]) - werden neben den im vorhergehenden Abschnitt aufgeführten Angaben insbesondere noch die laborchemischen Parameter im Urin nach Calciumgabe benötigt. Dazu kommen noch Parathormonbestimmungen und auf einzelne Störungen zielende Tests, wie z.B. Ammon-Chlorid-Belastung bei Verdacht auf renale tubuläre Acidose.

Diese Untersuchungen wurden von der Steinsprechstunde vorgenommen (Hegemann M. et al., 1982 [27]).

Danach verteilen sich die dem Calciumstein-Kollektiv angehörenden 60 Patienten auf neun Gruppen, wobei 14 Patienten zwei Gruppen angehören. Die Überschneidungen beziehen sich auf Patienten mit Hypercalciurie bei gleichzeitig bestehender Hyperurikosurie.

Die Patienten mit Hypercalciurie ¹⁾ werden in vier Gruppen aufgeteilt:

- I. Absorptive Hypercalciurie (Hyperabsorber)(n = 3)
(HA) mit einem Anstieg des Quotienten Ca/Kreatinin im Urin nach Calciumgabe und sonst eher unauffälligen Werten. Dieser Gruppe gehören 3 Patienten an (n = 3)

1)

Die Festlegung des hypercalciurischen Status erfolgt nach der Calciumausscheidung im 24-Stunden-Urin. (Mehr als 300 mg bei Männern, mehr als 250 mg bei Frauen und/oder mehr als 4 mg pro kg Körpergewicht.) Zur Problematik dieser Einteilung, insbesondere der gewählten Normalwerte, siehe Hegemann M. et al., 1982 [27]).

II. Renal calcium leak (rCl) (n = 6)

mit normalen Serumwerten, erhöhter fraktioneller Calcium-clearance und keinem deutlichen Anstieg des Quotienten Ca/Kreatinin nach Calciumgabe.

Drei der sechs Patienten weisen gleichzeitig eine Hyperurikosurie auf.

III. Renal phosphorus leak (rPl) (n = 8)

mit erniedrigten Serum-Phosphatspiegel, erhöhter fraktioneller Phosphatclearance und normalem Ca/Kreatinin im Urin nach Calciumgabe.

Sechs der acht Patienten weisen gleichzeitig eine Hyperurikosurie auf.

IV. Nicht klassifizierbare Hypercalciurie (Ø k) (n = 9)

Fünf der neun Patienten dieser Untergruppe sind gleichzeitig Hyperurikosuriker.

Den zweiten, in etwa gleich großen Block neben den insgesamt 26 Patienten mit Hypercalciurie (HC) ($n = 26$) bilden 30 Patienten mit Hyperurikosurie (HU) ($n = 30$), festgelegt nach der Harnsäureausscheidung im 24-Stunden-Urin (mehr als 800 mg bei Männern, mehr als 700 mg bei Frauen). ¹⁾

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren (z.B. Coe F.L., 1978 [13]) findet sich eine relativ starke Überschneidung zwischen Hypercalciurie und Hyperurikosurie. Knapp die Hälfte ($n = 14$) der hyperurikosurischen Patienten ($n = 30$) weisen gleichzeitig eine Hypercalciurie auf. Bei den restlichen 16 Patienten handelt es sich um eine hyperurikosurische Calciumrolithiasis ohne andere pathologische Parameter.

Die verbleibenden - weder hypercalciurischen noch hyperurikosurischen Patienten ($n = 18$) - werden vier Gruppen zugeordnet. Es handelt sich um:

- I. Hypomagnesiurie (Inhibitorenmangel) ($n = 3$)
- II. Metabolisch unauffällige Patienten ($n = 6$)
- III. Patienten mit Harnwegsinfekten ($n = 3$)
- IV. Verschiedene andere Ursachen ($n = 6$)

Darunter fallen Markschwammnieren (2 Fälle), primärer Hyperparathyreodismus, distale renale tubuläre Acidose, Vitamin-D-Überdosierung und M. Crohn mit Hyperoxalurie.

1)

Da der Urin im vorliegenden Fall unter normaler Hauskost gesammelt wird (vgl. 2.1.6.1), spiegelt die Harnsäureausscheidung hier wesentlich auch die Ernährungsgewohnheiten (unter deren Wirken allerdings auch die Steine gebildet werden) wider.

Eine Übersicht über die Gesamteinteilung der Calciumurolithiasispatienten (n = 60) gibt die nachfolgende Tabelle:

	Hypercalciurie					Ø H C	1 - 5
	HA	rCl	rPl	Ø k	1 - 4		
Ø H U	3	3	2	4	12	18	30
H U	-	3	6	5	14	16	30
	3	6	8	9	26	34	60

Tab. 1

2.1.6.3 Einteilung nach der Medikation

Die im vorhergehenden genannten laborchemischen Parameter werden bei den Patienten der Steinsprechstunde in der Regel zweimal erhoben: In einem ersten Test bei Aufnahme und (ca. 6 Monate später) in einem Re-Test nach Durchführung einer an den Ergebnissen des ersten Testes orientierten Behandlung.

Insbesondere die Patienten, bei denen die Parameter (und damit auch die zum gleichen Zeitpunkt bestimmte APRT-Aktivität) im Rahmen eines Re-Testes erfaßt wurden, standen demzufolge unter einer auf ihr Steinleiden gerichteten Medikation.

Berücksichtigt werden hier das gegen die Hyperurikosurie gerichtete Allopurinol (meist in der Dosierung 300 mg/d) und das gegen die Hypercalciurie gerichtete Hydrochlorothiazid, z.B. Esidrix^R, meist in der Dosierung 2 x 25 mg/d.

Damit lassen sich die 60 Calcium-Urolithiasis-Patienten in drei, bei Berücksichtigung der Überschneidungen zwischen Allopurinol und Hydrochlorothiazid auch in sechs Gruppen teilen.

Einen Überblick über diese Einteilung gibt Teil I der nachfolgenden Tabelle:

I			II
Nr.	Gruppe	Anzahl (n)	Anzahl (n)
1	Nur Hydrochlorothiazid	5	4
2	Alle Hydrochlorothiazid	13	10
3	Hydrochlorothiazid + Allopurinol	8	6
4	Alle Allopurinol	17	14
5	Nur Allopurinol	9	8
6	Keine Medikation	42	38

Tabelle 2

Wie man der Tabelle entnehmen kann, haben insgesamt 17 Patienten Allopurinol eingenommen (Zeile 4), ausschließlich damit behandelt wurden jedoch nur 9 Patienten (Zeile 5). Acht Patienten erhielten zusätzlich Hydrochlorothiazid (Zeile 3).

Der Ausschluß einer Medikation in Zeile 6 bezieht sich nur auf Hydrochlorothiazid und Allopurinol, die Häufigkeit einer dritten Medikation ist nach Durchsicht der anamnestischen Angaben jedoch gering.

Addiert man in Teil I der Tabelle 2 die disjunkten Mengen 1, 3, 5 und 6, erhält man $n = 64$, d.h. die 60 Patienten erscheinen nach ihrer vollständigen Aufteilung als 64 Fälle.

Dies erklärt sich daraus, daß bei vier Patienten die laborchemischen Parameter und die APRT-Aktivität zweimal gemessen werden konnten: Einmal ohne Medikation (Zeile 6), ein zweites Mal - im Rahmen des Re-Testes - mit Medikation. Während bei der Einteilung in metabolische Untergruppen (2.1.6.2) die beiden Meßwerte für die APRT-Aktivität gemittelt wurden, wird der im Rahmen des Re-Testes ermittelte Wert hier der neuen Gruppe zugeordnet.

In zwei Fällen ist dies die Gruppe 3 (die Patienten erhielten vor dem Re-Test Hydrochlorothiazid und Allopurinol), in je einem Fall die Gruppe 1 (Hydrochlorothiazid) bzw. 5 (Allopurinol).

Verzichtet man auf die in den 4 Doppelmessungen enthaltene Information (bzw. gliedert sie aus) und nimmt die betreffenden Individuen aus der Stichprobe heraus, ergibt sich für die verbleibenden 56 Patienten die in Teil II der Tabelle 2 angegebene Verteilung auf die verschiedenen Gruppen.

2.1.6.4 Einteilung nach metabolischen Untergruppen und Medikation

Die Einflußfaktoren auf die APRT-Aktivität, entlang derer die Gruppen in den letzten beiden Abschnitten gegliedert wurden, könnten sich möglicherweise konterkarieren.

Da viele der hyperurikosurischen Patienten Allopurinol einnehmen, könnte z.B. eine regelmäßige erhöhte Aktivität der hyperurikasurischen Patienten durch eine aktivitätsmindernde Wirkung von Allopurinol maskiert werden, d.h. obwohl eindeutige Effekte vorliegen, würden sowohl die hyperurikosurische Gruppe als auch die Allopurinol-Gruppe eine unauffällige Verteilung der APRT-Aktivität zeigen.

Um solche eventuell auftretenden gegenläufigen Effekte auszuschließen, werden die Patienten auch nach metabolischen Untergruppen und Medikation gruppiert.

Eine Übersicht gibt die nachfolgende Tabelle (mit H U für Hyperurikosurie, H C für Hypercalciurie, Esidrix^R für Hydrochlorothiazid und Zyloric^R für Allopurinol).

I		II	
Nr.	Gruppe	Anzahl (n)	Anzahl (n)
1	H Cohne Esidrix	18	15
2	H U ohne Zyloric	16	12
3	H U mit Zyloric	17	14
4	H C mit Esidrix	11	8

Tabelle 3

Teil I der Tabelle 3 enthält wieder die vier Doppelmessungen (drei mit H U und HC, einer nur mit H U), Teil II ist um diese Personen bereinigt.

2.2 Bestimmung der APRT-Aktivität in Erythrocytenlysaten

2.2.1 Gewinnung und Weiterverarbeitung der Proben

Benötigt werden pro Patient 5 - 10 ml heparinisiertes Vollblut. Gewonnen wurden diese Proben durch Punktion einer Vene mit Kanülen von mindestens einem Millimeter Durchmesser und vorsichtiger Aspiration in eine mit Thrombophob benetzte Spritze.

Bei den Dialysepatienten erfolgte die Blutabnahme zu Beginn der Dialyse, bei den Patienten der Steinsprechstunde gleichzeitig mit der Bestimmung der anderen Laborparameter, bei den restlichen Steinpatienten meist im Rahmen eines Ausscheidungsurogrammes (vor Kontrastmittelgabe), d.h. im kolikfreien Intervall. Kein Patient hatte in den Monaten vor der Entnahme eine Bluttransfusion erhalten.

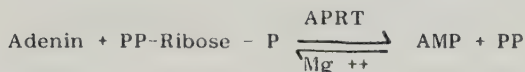
Unmittelbar nach der Blutentnahme werden die Proben in nicht präparierte (keine EDTA-Röhrchen) Plastikreagenzgläsern verbracht und bei Raumtemperatur 10 Minuten mit 600 g zentrifugiert. Anschließend wird das Serum und der Lymphocytenaum abgesaugt (bzw. anderen Bestimmungen zugeführt) und die Erythrocyten mit kalter 0,9%-iger Kochsalzlösung zweimal gewaschen. Die gewaschenen Erythrocyten können dann bei -25°C eingefroren werden. Die Lysierung erfolgt durch Auftauen bei Raumtemperatur, nochmaliges Einfrieren und wiederholtes Auftauen.

Nach unseren Erfahrungen können die Erythrocyten bzw. ihr Lysat lange (bis zu mehreren Monaten) eingefroren werden, ohne daß es zu einer systematischen Abnahme der gemessenen APRT-Aktivität käme. Im vorliegenden Fall wurden die Proben im Schnitt zwei Wochen nach ihrer Gewinnung vermessen.

Vor der Bestimmung wird das Erythrocytenlysate noch 1 Stunde gegen einen Trispuffer (19 mmol/l, pH 7,4) dialysiert und im Verhältnis 1 : 50 mit dem Puffer verdünnt.

2.2.2 Mikroradiochemische Bestimmung der APRT-Aktivität

Nach der Formel



wird aus radioaktiv markiertem Adenin (8 - ^{14}C Adenin) und PP - Ribose - P eine gewisse (mit einem Scintillationszähler bestimmte) Menge von radioaktivem ^{14}C AMP gebildet, die als Maß für die APRT-Aktivität dient.

Im vorliegenden Fall erfolgt die Trennung des Reaktionsproduktes vom Substrat mit Hilfe der Hochvoltelektrophorese. Das empfindliche und zuverlässige Verfahren geht auf Kelley (1967, (33)) zurück und wird detailliert beschrieben von Banholzer und Gröbner in Bergmeyer "Methods of Enzymatic Analysis" (1983, (6)).

Im auf 37° C erwärmten Schüttelbad werden dabei inkubiert:

0,05 ml Substratlösung und

0,05 ml verdünntes Hämolyat.

Nach 20 Minuten wird die Reaktion durch Zugabe von 0,02 ml EDTA-Lösung (100 mmol/l) gestoppt.

Die Substratlösung enthält Mg Cl_2 (12 mmol/l), Tris (100 mmol/l, pH 7,4), 8 - ^{14}C Adenin (0,5 mmol/l, spez. Aktivität 5,6 m Ci/mmol) und PP - Ribose - P (2 mmol/l).

5 ml der Lösung (ausreichend für ca. 100 Bestimmungen) erhält man durch Zusammengabe von

- 0,5 ml Trispuffer (pH 7,4, 19 mmol/l)
- 1,0 ml Mg Cl_2 /Tris (pH 7,4, Mg Cl_2 20 mmol/l Tris 200 mmol/l)
- 1,0 ml Aqua dest.
- 1,5 ml verdünntes radioaktives Adenin (1,35 ml aus einer Lösung von 24 mg nichtradioaktivem Adenin in 100 ml Aqua dest. und 0,15 ml 8 - ^{14}C Adenin-Lösung (1,7 mmol/l spez. Aktivität 56 mCi/mmol)

- 1,0 ml PP - Ribose - P Lösung (10 mmol/l) aus Lösung von 5 mg PP - Ribose - P (Dimagnesiumsalz, 70 %)

in 1,065 ml Aqua dest.

Die beiden letztgenannten Bestandteil der Substratlösung wurden vor jeder Meßreihe frisch zubereitet, die Lösung verblieb bis zum Starten der Reaktion durch Zugabe des Hämolsates im Eisbad.

Zur Trennung des Produktes vom Substrat durch Hochvoltelektrophorese wird Whatman No. 3 MM Chromatographiepapier in Boratpuffer (25 mmol/l , pH 8,5) gewässert und - nach entsprechender Markierung - 0,02 ml AMP-Lösung (2 mg/ml) und 0,02 ml der inkubierten Lösung aufgetragen. Nach 30-minütiger Elektrophorese kann das Papier getrocknet, der Ort an den das AMP gewandert ist unter ultravioletter Licht (Wellenlänge 254 nm) identifiziert und der entsprechende Fleck ausgeschnitten werden. Gemeinsam mit 10 ml Scintillationslösung (9,45 g 2,5 Diphenyloxazol und 0,2 g 2,2 -P-Phenylbis-(5-Phenyloxazol) in 2,5 l Toluol) wird er dann in ein Zählröhrchen verbracht und bei 4 °C 10 Minuten lang in einem Flüssigkeitsscintillationszähler ausgezählt.

Als Leerwert, dessen counts vor Berechnung der Aktivität von den counts der übrigen Proben abgezogen werden, dient eine Probe, der statt des verdünnten Hämolysates 0,05 ml Trispuffer (19 mmol/l, pH 7,4) zugesetzt werden.

In die Formel zur Berechnung der APRT-Aktivität (vgl. Banholzer und Gröbner, 1983 (6) S. 321)) gehen neben den counts, die im Zähler stehen, in den Nenner noch ein: die Effizienz des Scintillationszählers (im vorliegenden Fall der Packard-Faktor 0,60), die spezifische Aktivität des verwendeten $8\text{-}^{14}\text{C}$ Adenins (im vorliegenden Fall 55,6 Ci/mol) sowie Faktoren, durch welche die jeweiligen Verdünnungen berücksichtigt werden und die gebildete AMP-Menge auf eine Stunde bezogen wird. Schließlich wird diese Menge noch in bezug zum Eiweißgehalt des Hämolysates gesetzt. Dieser Wert wurde (nach zehnfacher Verdünnung des Hämolysates mit isotoner Kochsalzlösung) nach der Methode von Lowry et al. (1951 (38)) bestimmt. Das Ergebnis wird dann - wie international üblich und in dieser Arbeit durchweg verwandt - in nmol (AMP) pro Protein pro Stunde (nmol/mg Prot./h) angegeben.

2.3 Statistische Methoden

2.3.1 Beschreibende Statistik

Die für die APRT-Aktivität und die laborchemischen Parameter gemessenen Werte werden im Rahmen der beschreibenden Statistik geordnet und übersichtlich dargestellt. Grundlage ist die Ermittlung der relativen Häufigkeiten, d.h. die Feststellung, bei welchem Bruchteil der untersuchten Personen die jeweils relevante Variable einen bestimmten Wert annimmt bzw. in ein bestimmtes Intervall fällt. Die so gefundenen Häufigkeitsfunktionen werden in Koordinatensysteme eingetragen. Damit sind die zu untersuchenden empirischen Verteilungen - hier die Verteilung der APRT-Aktivität bei den verschiedenen Patientengruppen - vollständig und anschaulich beschrieben.

Anschließend werden Kennzahlen dieser Verteilungen ermittelt.

Sie erfassen bestimmte Aspekte der in Frage stehenden empirischen Verteilung und eignen sich zur gezielten und schnellen (wenn auch nicht vollständigen) Charakterisierung einer Verteilung sowie zum Vergleich mehrerer Verteilungen im Hinblick auf den erfaßten Aspekt.

Die wichtigsten hier verwandten Kennzahlen sind der Mittelwert (symbolisiert durch $\bar{M}$ oder einen Querstrich über der betreffenden Variablen) und die Standardabweichung. Sie entspricht der Quadratwurzel aus der Varianz (s^2) und wird - im deutschen Sprachgebrauch etwas verwirrend - oft auch als Streuung bezeichnet. Gebräuchliche Symbole sind s (Standardabweichung) und SD (Standard Deviation).

Zur Charakterisierung bivariabler Verteilungen wird im folgenden insbesondere der empirische Koorelationskoeffizient (Pearson-Bravais'scher Maßkorrelationskoeffizient) r herangezogen:

$$r = \frac{s^2_{xy}}{s^2_{xx} s^2_{yy}}$$

mit s^2_{xx} als Varianz der x-Werte, s^2_{yy} als Varianz der y-Werte und s^2_{xy} als gemischtes Moment der zentrierten Meßreihen (Kovarianz).¹⁾

Die dimensionslose Kennzahl r kann Werte zwischen -1 und +1 annehmen. Positive Werte weisen auf ein "Gleichlaufen" der beiden Meßreihen hin, "Gegenläufigkeit" drückt sich in einem negativen r aus, d.h. das Vorzeichen von r gibt die "Richtung" eines eventuellen Zusammenhanges an.

Die "Stärke" des Zusammenhanges kommt - mit gewissen Einschränkungen - im Betrag von r zum Ausdruck. Die Einschränkungen beziehen sich vor allem darauf, daß r nur streng lineare Zusammenhänge zuverlässig erfaßt. So kann bei $r = 0$ (unkorrelierte Variable) durchaus ein (allerdings nicht linearer) Zusammenhang zwischen den Variablen bestehen, d.h. aus Unkorreliertheit folgt nicht statistische Unabhängigkeit.

Die Abweichungen des empirischen Koorelationskoeffizienten von Null, bzw. Differenzen zwischen Koorelationskoeffizienten sollten - um zu besser gesicherten Aussagen zu kommen - auf ihre statistische Signifikanz geprüft werden (vgl. 2.3.2). Selbstverständlich kann von korrelativen nie zwangsläufig auf kausale Zusammenhänge geschlossen werden.

1)

Die entsprechenden Formeln finden sich z.B. bei Clauß, M. et al., (11), 1982 : 117

2.3.2 Statistische Prüfverfahren

Statistische Prüfverfahren behandeln die Frage, welche Informationen über die Grundgesamtheit die Stichprobenbefunde vermitteln können, d.h. inwieweit die gefundenen Ergebnisse verallgemeinert werden können. Um dieser Frage näherzukommen, werden Hypothesen über die Grundgesamtheit formuliert und geprüft, ob gefundene Abweichungen von den postulierten Werten zufällig oder "überzufällig" (signifikant) sind. Entscheidungen für oder gegen die Hypothese können dabei nie als sicher oder unumstößlich gelten, neue Daten können immer wieder eine Änderung der Entscheidung oder eine Umformulierung der Hypothesen nahelegen.

Wie gut die Hypothese durch die Ergebnisse gestärkt wird, kommt durch die Art der Entscheidung und das Signifikanzniveau zum Ausdruck.

Verwerfung der Hypothese auf dem Signifikanzniveau $\alpha = 5\%$ bedeutet, daß die Wahrscheinlichkeit dafür, die Hypothese abzulehnen, obwohl sie richtig ist, gerade 0,05 beträgt, d.h. bei sehr vielen Testwiederholungen werden in 5% der Fälle Stichprobenergebnisse gefunden, die zur Ablehnung der eigentlich richtigen Hypothese verführen. Einer dieser Fälle kann natürlich der vorliegende Test sein und insofern ist die Ablehnung der Hypothese mit einer (allerdings quantifizierbaren) Fehlerwahrscheinlichkeit behaftet.

Problematischer als die Feststellung, daß eine Hypothese durch die Ergebnisse schlecht gestützt wird, ist die Frage, wie gut eine Hypothese gestützt ist.

Kommt es beim vorgewählten Signifikanzniveau α nicht zur Verwerfung der Hypothese, kann man daraus nicht ihre Bestätigung ableiten.

Mit dieser Beschränkung auf eine Verwerfungsregel umgehen die üblichen Signifikanztests den Fehler zweiter Art (Hypothese wird angenommen, obwohl sie falsch ist). Dadurch, daß der Fehler zweiter Art, der mit sinkendem Fehler erster Art (α) zunimmt, nicht kontrolliert wird, ist der Informationsgewinn bei Verwerfung der Hypothese größer als bei Nicht-Verwerfung. Insbesondere kann im letzteren Fall keinesfalls gefolgert werden, die Hypothese sei mit der Irrtumswahrscheinlichkeit α richtig. Bei Ablehnung der Hypothese kommt das Signifikanzniveau α - wie bereits ausgeführt - jedoch zur Geltung.

Dabei bezeichnet man ein Ergebnis auf dem Niveau $\alpha \leq 0,05$ als signifikant, auf dem Niveau $\alpha \leq 0,01$ als sehr signifikant und auf dem Niveau $\alpha \leq 0,001$ als hochsignifikant. Oft wird das Signifikanzniveau auch durch 1 - 3 Sternchen symbolisiert (***: hochsignifikant).

Das häufigste im folgenden verwandte und entsprechend den obigen Aussagen interpretierte Prüfverfahren ist der t-Test für zwei unabhängige Stichproben (vgl. Clauß M. et al., (11), 1982: 207).

Er prüft die Hypothese, die Mittelwerte der Grundgesamtheiten, denen die Stichproben entstammen seien, gleich. Eventuelle Differenzen der Mittelwerte der Stichprobenergebnisse wären dann nur durch das Wirken zufälliger Faktoren bedingt.

Zu dieser Nullhypothese H_0 wird im folgenden stets die Gegenhypothese $H_1 : M_1 \neq M_2$ (zweiseitige Fragestellung) formuliert, da weder $M_1 < M_2$ noch $M_2 < M_1$ mit ziemlicher Sicherheit ausgeschlossen werden kann. Selbstverständlich wird bei der gewählten zweiseitigen Fragestellung H_1 "schwerer" angenommen als bei einseitiger Fragestellung ($H_1 : M_1 < M_2$ oder $H_1 : M_2 < M_1$), d.h.

die Mittelwertdifferenz, die beim vorgegebenen Signifikanzniveau zur Ablehnung von H_0 führt, muß beim zweiseitigen Test größer sein als bei einseitiger Fragestellung. Umgekehrt kann eine feste Differenz durch den Wechsel vom zwei- auf den einseitigen Test signifikanter (oder gar erst signifikant) "gemacht werden" - die "geschickte" Hypothesenwahl ist insofern ein beliebtes Mittel um die begehrten Sternchen "herbeizuzaubern". ¹⁾

Wesentliche Voraussetzung für die Anwendung des t-Tests ist, daß die beiden Stichproben aus Grundgesamtheiten stammen, die mit derselben Streuung normal verteilt sind. Der erste Teil dieser Voraussetzung (identische Varianz) wird hier mit dem F-Test nach Fisher (Clauß, M. et al., [11], 1982:210) überprüft. Ob der geforderte Verteilungstyp vorliegt, wird mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests festgestellt (vgl. z.B. Clauß M. et al., [11]), 1982: 215).

Während der zentrale Grenzwertsatz dafür sorgt, daß die zweite Voraussetzung bei den im folgenden untersuchten Variablen meist erfüllt ist, liegen identische Varianzen nicht in allen Fällen vor. Man könnte in diesen Fällen zu Parameter- bzw. Verteilungsfreien Prüfverfahren (wie z.B. Wilcoxon) greifen, verzichtet damit aber auf einen Teil der Informationen (Aussagen über den Verteilungstyp), die der Versuch geliefert hat. In der vorliegenden Arbeit wird deshalb in den angesprochenen Fällen eine von Welch entwickelte Prüfmethode ²⁾ benutzt, die die Kenntnis der Verteilungsform (Normalverteilung) ausnutzt.

1)

Die inhaltliche Problematik der Signifikanztestung, insbesondere die (oft überschrittenen) Grenzen ihrer Anwendung bzw. Interpretation werden gut dargestellt z.B. in Haagen K. et al., [24a], 1979.

2)

Dargestellt z.B. in Pfanzagl J., [46], 1962: 201

Nicht unabhängige Stichproben (z.B. APRT-Aktivität von Patienten vor und nach Medikation) kommen im weiteren zwar vor, sind aber zu klein, um die Voraussetzungen des t-Testes für korrelierende Stichproben zu erfüllen.

Oft sind dahingegen mehr als zwei unabhängige Stichproben auf die Frage hin zu prüfen, ob sie der gleichen Grundgesamtheit entstammen. Verwandt wird dazu - als Verallgemeinerung der t-Testes - die von Fisher entwickelte Varianzanalyse, und zwar in Form der einfachen Varianzanalyse (ohne Blockbildung). Zur Überprüfung der notwendigen Voraussetzungen werden der Chi-Quadrat-Test (Normalverteilung?) und der Bartlett-Test (Varianzhomogenität?) eingesetzt.

Kann die Hypothese, daß alle Stichproben der gleichen Grundgesamtheit entstammen, zurückgewiesen werden, wird mit Hilfe des "neuen multiplen range-Testes" von Duncan untersucht, zwischen welchen Grundgesamtheiten Unterschiede bestehen. Eine Beschreibung der entsprechenden Verfahren findet sich z.B. bei Clauß M. et al., (11), 1982 (Varianzanalyse: 304; Chi-Quadrat-Test: 215; Bartlett: 306; Duncan: 317).

2.3.3 Praktische Durchführung

Sowohl die statistischen Beschreibungen (incl. Graphiken) als auch die Signifikanztests wurden erstellt mit Hilfe einer Konfiguration aus Apple II e und HP-Plotter.

Die Geräte wurden freundlicherweise von der Steinsprechstunde der TU-München zur Verfügung gestellt.

Neben den üblichen Betriebssystemen und Hilfsprogrammen wurden die Programme Business Graphics (Fa. Apple) und Micro-Stat II (Kleiter, F. (35a), verwandt.

Einzelne Tests (z.B. nach Welch) wurden nicht im Rahmen der Verarbeitung der abgespeicherten Daten, sondern direkt aus dem Rohmaterial mit Hilfe eines Taschenrechners ausgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Vergleich von Normalkollektiv, Dialysekollektiv und Steinkollektiv

3.1.1 Das Normalkollektiv

Die wichtigsten Kennzahlen sind:

Anzahl der Personen:	n = 524
Mittlere APRT-Aktivität:	M = 28,9
(ausgedrückt in nmol/mg Prot./h)	
Standardabweichung:	s = 5,7

Der Chi-Quadrat-Test zeigt eine gute Anpassung der gefundenen Verteilung an die Normalverteilung. (Güte der Anpassung nach Lienert, 1982 (36a)).

Die Häufigkeit von "Ausreißern" nach unten ist noch geringer als durch die bei Normalverteilung gültige 3-s-Regel gefordert. Während nach dieser Regel 4,6 % aller Messungen nicht im Intervall $M \pm 2s$ liegen, weisen im vorliegenden Fall nur 4 Personen (0,76%) eine Aktivität unter der 2-s-Grenze (17,5) auf. (Über der 2-s-Grenze: 2,48 %).

Nur 4 % aller untersuchten Personen zeigen APRT-Aktivitäten $\leq 20 \text{ nmol/mg/h}$.

Ein Bild von der vollständigen Verteilung der APRT-Aktivität in diesem Kollektiv gibt Fig. 1 (S. 72).

3.1.1.1 Familienuntersuchung bei einer Person des Normalkollektivs

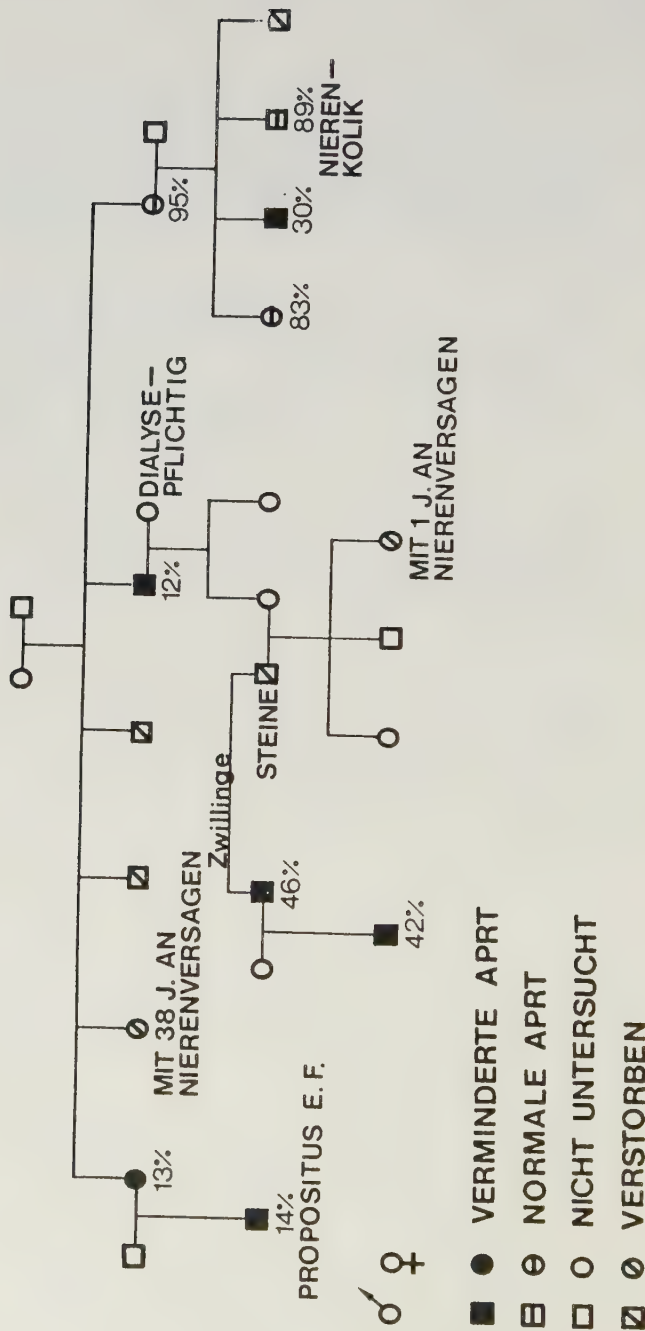
Bei einer Person des Normalkollektivs (E.F.), die nur 14 % der mittleren Aktivität aufwies, war es möglich, eine Familienuntersuchung durchzuführen.

Von den 25 untersuchten Personen waren zwei an Nierenversagen ungeklärter Genese verstorben und zwar im Alter von 38 Jahren bzw. 11 Monaten. Zwei Personen berichteten von Steinepisoden; die Steine waren aber bedauerlicherweise nicht analysiert worden.

Bei neun Personen konnte die APRT-Aktivität gemessen werden. Sechs davon wiesen eine erniedrigte Aktivität auf (von 12 - 46 % des Mittelwertes des Normalkollektivs). Bis auf einen, der an wiederholten abakteriellen dysurischen Beschwerden litt, berichteten diese Personen aber über keine Beschwerden.

Einen Überblick über die untersuchte Familie gibt die nachfolgende Fig. 1 a (S. 36).

STAMMBAUM EINES PATIENTEN (E.F.) MIT PARTIELLEM APRT - MANGEL



3.1.2 Das Dialysekollektiv

Die wichtigsten Kennzahlen sind:

Anzahl der Personen:	n = 139
Mittlere APRT-Aktivität: (in n mol/mg Prot./h)	M = 44,6
Standardabweichung:	s = 17,1

Die Anpassung an die Normalverteilung ist gut.

Unter der 2-s-Grenze dieser Verteilung liegt keine Person, über der 2-s-Grenze (78,8) finden sich zehn (7,2 %) Dialysepatienten.

Bezieht man die bei den Dialysepatienten festgestellten Aktivitäten auf die 2-s-Grenzen des Normalkollektivs (17,5;49,3), findet man 2 Patienten unter und über die Hälfte (75) über diesen Grenzen.

Die vollständige Verteilung ist in Fig. 2 (S. 73) angegeben.

3.1.3 Das Steinkollektiv

Die wichtigsten Kennzahlen sind:

Anzahl der Personen:	n = 120
Mittlere APRT-Aktivität: (in n mol/mg Prot./h)	M = 21,6
Standardabweichung:	s = 8,7

Eliminiert man aus dem gemischten Steinkollektiv (= nicht identifizierte Steine) zwei Personen mit extrem hohen APRT-Aktivitäten (Begründung dieses Vorgehens in 3.2.1) kommt man zu folgenden revidierten Werten:

Anzahl der Personen:	$n = 118$
Mittlere APRT-Aktivität: (in n mol/mg Prot./h)	$M = 20,1$
Standardabweichung:	$s = 6,1$

Die Anpassung an die Normalverteilung ist in beiden Fällen gut, die Verteilungen erscheinen relativ symmetrisch. Die im Vergleich zu den anderen Kollektiven niedrigere mittlere Aktivität der Steinpatienten scheint damit nicht durch einzelne (homo- oder heterozygote) "Ausreißer" bedingt zu sein. Es entsteht vielmehr der Eindruck, die gesamte Verteilung sei bei den Steinpatienten "nach links verschoben".

Die 2-s-Grenzen liegen bei 4,2 und 39,9 für die ursprüngliche und bei 8,2 bzw. 32,4 für die revidierte Verteilung.

Mit einer APRT-Aktivität von 5,9 n mol/mg Prot./h liegt ein Patient unter der 2-s-Grenze des revidierten Kollektivs. Über der Grenze finden sich neun bzw. sieben Steinpatienten.

Bezieht man die gemessenen Aktivitäten der Steinpatienten auf die 2-s-Grenzen des Normalkollektivs, wächst die Zahl der "Ausreißer" drastisch an. 31 Steinpatienten, d.h. mehr als ein Viertel aller (118) gemessenen Steinpatienten liegen unter dieser Grenze.

Die vollständige Verteilung der APRT-Aktivität bei den Steinpatienten zeigt (in revidierter Form) Fig. 3 (S. 74).

3.1.4 Vergleich der drei Kollektive

Die mittlere APRT-Aktivität der Dialysepatienten ($M_D = 44,6$) liegt deutlich über dem Mittelwert des Normalkollektivs ($M_N = 28,9$).

Die mittlere Aktivität der Steinträger ($M_S = 20,1$) liegt deutlich unter diesem Referenzwert.

Beide Differenzen sind hochsignifikant, d.h. die Wahrscheinlichkeit, die gefundenen Werte zu erhalten, obwohl die APRT-Aktivität bei allen Patientengruppen gleich verteilt ist, beträgt weniger als 1 %.

Im Fall der Differenz zwischen Dialyse- und Normalkollektiv wurde dieses Ergebnis wegen Varianz-Heterogenität (F-Test) nicht mit dem t-Test, sondern nach der Methode von Welch ermittelt (vgl. 2.3.2).

Eine vergleichende Darstellung der drei verschiedenen Verteilungen bieten die Fig. 4 - 6 (S. 75 - 77).

3.2 Unterteilung des Steinkollektivs nach Steinarten

3.2.1 Das gemischte Steinkollektiv

Im Steinkollektiv ist eine Untergruppe enthalten, bei der die Zusammensetzung der Steine unbekannt ist (vgl. 2.1.3).

Die wichtigsten Kennzahlen dieser Gruppe sind:

Anzahl der Personen:	$n = 41$
Mittlere APRT-Aktivität: (in n mol/mg Prot./h)	$M = 21,4$
Standardabweichung:	$s = 12,6$

Die im Vergleich zum gesamten Steinkollektiv große Streuung beruht im wesentlichen auf zwei Extremwerten:

Patient A:	56,3	n mol/mg Prot./h
Patient Z:	79,8	n mol/mg Prot./h

Bei Patient A handelt es sich um ein 9 Monate altes Kind, in dessen Harnwegen Konkremeente gefunden wurden, die einen beidseitigen Harnstau verursachten. Zum Untersuchungszeitpunkt war der Stau bereits durch eine Fistel beseitigt. Der hohe Wert für die APRT-Aktivität ließe sich jedoch auch durch die bei Kleinkindern üblicherweise überhöhte Enzymaktivität erklären (Borden M. et al., 1974 [8a]).

Bei Patient Z handelt es sich um eine 46-jährige Patientin mit interstitieller Nephritis und rezidivierender Urolithiasis. Zum Untersuchungszeitpunkt befand sich die Patientin im akuten Nierenversagen mit einem Kreatinin von 5,4 %. Möglicherweise ist diese Einschränkung der Nierenfunktion für die hohe APRT-Aktivität verantwortlich.

Streicht man die Patienten A und Z, ergibt sich ein revidiertes Kollektiv mit den Kennzahlen:

Anzahl der Personen:	N = 39
Mittlere APRT-Aktivität: (in n mol/mg Prot./h)	M = 18,9
Standardabweichung:	s = 6,2

Die Anpassung an die Normalverteilung ist gut.

Außerhalb der 2-s-Grenzen dieser Verteilung liegen statt der theoretisch geforderten 4,6 % knapp über 5 % (zwei Personen), und zwar ausschließlich über der oberen Grenze (31,4).

Die vollständige, revidierte Verteilung der APRT-Aktivität dieser Untergruppe ist in Fig. 7 (S. 78) dargestellt.

3.2.2 Harnsäuresteine

Für dieses Kollektiv gilt:

Anzahl der Personen:	$n = 16$
Mittlere APRT-Aktivität: (in n mol/mg Prot./h)	$M = 22,5$
Standardabweichung:	$s = 5,7$

Die Anpassung an die Normalverteilung ist - bedingt auch durch den geringen Umfang des Kollektivs - nur mäßig (Güte der Anpassung nach Lienert, 1982 [36a]).

Eine vollständige Beschreibung der Verteilung gibt Fig. 8 (S. 79).

3.2.3 Cystinsteine

Für dieses sehr kleine Kollektiv gilt:

Anzahl der Personen:	$n = 3$
Mittlere APRT-Aktivität: (in n mol/mg Prot./h)	$M = 25,0$
Standardabweichung:	$s = 9,5$

Aufgrund der kleinen Fallzahl kann der Verteilungstyp nicht bestimmt werden. Die drei Meßwerte betragen: 14,0; 29,9; 31,1

Eine graphische Darstellung erübrigt sich.

3.2.4 Calciumhaltige Steine

Die wichtigsten Kennzahlen dieses Kollektivs sind:

Anzahl der Personen:	$n = 60$
Mittlere APRT-Aktivität: (in n mol/mg Prot./h)	$M = 21,3$
Standardabweichung:	$s = 5,7$

Die Anpassung an die Normalverteilung ist gut, allerdings wieder mit einer leichten Asymmetrie zugunsten der oberen Extremwerte.

Während drei Personen (5 %) über der oberen 2-s-Grenze (32,6) liegen, wird die untere Grenze (10,0) nur von einer Person (1,7 %) unterschritten. Mit einer Aktivität von 5,9 n mol/mg Prot./h unterschreitet dieser Patient als einziger auch die 2-s-Grenze des gesamten Steinkollektivs und ist möglicherweise ein heterozygoter Träger des APRT-Defektes.

Eine vollständige Darstellung der Verteilung der APRT-Aktivität bei den Calciumrolithiasispatienten gibt Fig. 9 (S. 80).

3.2.5 Vergleich der verschiedenen Steinkollektive

Die gefundenen Mittelwerte liegen relativ dicht beieinander. Sie betragen - in absteigender Reihenfolge geordnet - für

Cystinsteine ($n = 3$):	$M_{Cy} = 25,0$	$\pm 9,5$
Harnsäuresteine ($n = 16$):	$M_H = 22,5$	$\pm 5,7$
Calciumsteine ($n = 60$):	$M_C = 21,3$	$\pm 5,7$
Nicht identifizierte Steine ($n = 39$):	$M_G = 18,9$	$\pm 6,2$

Dies gilt auch für die hinter den Mittelwerten angegebenen Standardabweichungen. Eine Ausnahme bildet lediglich das statistisch nicht auswertbare, aber interessanterweise am höchsten liegende Cystinsteinkollektiv. Eine vergleichende Darstellung von Calciumstein- und Harnsäuresteinkollektiv bringt Fig. 10 (S. 81).

Die einfache Varianzanalyse zeigt, daß die Hypothese, die Mittelwerte der jeweiligen Grundgesamtheiten seien gleich ($H_0 : M_H = M_C = M_G$) auf dem Signifikanzniveau $\alpha = 5 \%$ nicht zugunsten der Hypothese $H_1 : M_H \neq M_C \neq M_G$ abgelehnt werden kann.

Der Verdacht, verschiedene Steinarten würden mit verschiedenen APRT-Aktivitäten einhergehen (H_1), kann also nicht (mit einer gewissen Irrtumswahrscheinlichkeit) bestätigt werden - ein "Freispruch aus Mangel an Beweisen", der nicht dazu verführen darf, die gegenteilige Hypothese H_0 (identische Verteilungen) als bestätigt anzusehen, auch nicht als bestätigt mit einem bestimmten Irrtumsrisiko: dieses Risiko kann eben gerade nicht kalkuliert werden.

Es geht im Rahmen der vorliegenden Arbeit aber auch weniger darum, nachzuweisen, daß die APRT-Aktivität bei den verschiedenen Steintypen identisch verteilt ist, als vielmehr um die Prüfung der Frage, ob für die signifikant erniedrigte APRT-Aktivität der Steinpatienten eine bestimmte, identifizierbare Untergruppe dieser Patienten verantwortlich ist. Für die Identifikation der Untergruppen entlang der Steinarten muß diese Frage aufgrund der gefundenen Ergebnisse verneint werden - inwieweit andere Einteilungskriterien zu positiven Ergebnissen führen, wird im folgenden zu untersuchen sein.

3.3 Nähere Untersuchung des Calciumsteinkollektivs

3.3.1 Korrelation der APRT-Aktivität mit laborchemischen Parametern

Signifikant von Null verschiedene Korrelationskoeffizienten (vgl. 2.3.1) zwischen APRT-Aktivität und den einzelnen bei Urolithiasis tangierten Laborparametern (vgl. 2.1.6.1) könnten evtl. einen Hinweis darauf geben, wo die Ursachen für die erniedrigte APRT-Aktivität der Steinpationen zu suchen sind.

Die entsprechenden Berechnungen liefern jedoch kein solches Ergebnis.

Von keinem Korrelationskoeffizienten kann angenommen werden, daß er sich in der Grundgesamtheit signifikant von Null unterscheidet (t-Test nach der Fisher'schen Z-Transformation, vgl. Pflanzagl, J., 1962 [46]): 274).

So gilt z.B. für die bivariable Verteilung von APRT-Aktivität und Calciumausscheidung im 24-h-Urin:

$$r = 0,038$$

Entsprechend andere Werte sind:

anorg. Phosphat im 24-h-Urin:	$r = -0,114$
Harnsäure im 24-h-Urin:	$r = 0,076$
Kreatinin im 24-h-Urin:	$r = 0,156$
Kreatinin im Serum:	$r = -0,069$
Harnsäure im Serum:	$r = 0,018$

Durch dieses Ergebnis nicht ausgeschlossen werden:

1. Nicht-lineare Zusammenhänge zwischen APRT-Aktivität und den einzelnen Parametern

2. Gemeinsamer "Einfluß" mehrerer Parameter auf die APRT-Aktivität, d.h. Zusammenhänge zwischen Aktivität und bestimmten Parameterkonstellationen.

Insbesondere dem zweitgenannten Problem soll im folgenden nachgegangen werden, wobei Konstellationen gewählt wurden, die verschiedene metabolische Untergruppen repräsentieren (vgl. 2.1.6.2).

3. 3.2 Vergleich der verschiedenen metabolischen Untergruppen

Vergleicht man die großen Untergruppen (Hypercalciurie, Hyperuricosurie, sowie deren Vereinigung, Schnitt und Negation), kommt man - nach absteigender mittlerer APRT-Aktivität geordnet - zu folgendem Ergebnis:

Nr.	Gruppe	n	APRT	SD
1	Hypercalciurie und Hyperuricosurie	14	23,7	6,3
2	Alle Hypercalciurie	26	22,8	6,5
3	Nur Hypercalciurie	12	21,8	6,6
4	Alle Hyperuricosurie	30	21,4	6,2
5	Alle Ca-Steine	60	21,3	5,7
6	Weder Hypercalciurie noch Hyperuricosurie	18	20,7	4,4
7	Nur Hyperuricosurie	16	19,4	5,6

Dieser Aufstellung zufolge tendieren Patienten mit Hypercalciurie - insbesondere in Verbindung mit Hyperuricosurie - zu höheren APRT-Aktivitäten, während reine Hyperuricosuriker und Patienten mit anderen Störungen eher niedere Werte zeigen.

Den niedersten in der Steingruppe gemessenen Wert (5,9 n mol/mg Prot./h) enthält die Gruppe 7: Calciumrolithiasis bei Hyperuricosurie. Die Gruppe liegt aber auch ohne Berücksichtigung dieses potentiell Heterozygoten mit einem revidierten Mittelwert von 20,3 am Ende der Tabelle.

Der Unterschied dieser Gruppe (ohne Revision) zum Spitzenreiter (Gruppe 1) wäre auf dem Signifikanzniveau $\alpha < 5\%$ nur bei einseitiger Fragestellung ($H_1 : M_1 > M_7$) signifikant. Da die Möglichkeit, daß Gruppe 7 den höheren Mittelwert aufweist ($H_1 : M_1 < M_7$) nicht mit guten Gründen ausgeschlossen werden kann, sollte jedoch davon ausgegangen werden, daß die Hypothese $H_0 : M_1 = M_7$ unter Grundlegung einer Irrtumswahrscheinlichkeit von kleiner 5 % nicht verworfen werden kann.

Das gleiche gilt für die im folgenden aufgeführten Untergruppen. Entweder sind die Gruppen zu klein, um statistische Prüfverfahren anwenden zu können, oder die Differenzen sind nicht signifikant.

Im einzelnen handelt es sich dabei um Untergruppen der Gruppen 1, 2, 3 und 6, jeweils nach absteigender mittlerer APRT-Aktivität geordnet:

Nr.	Gruppe	n	APRT	+	SD
1.1	Nicht klassifizierbare Hypercalciurie	5	26,4	+	5,4
1.2	Renal Phosphorus Leak	6	23,0	+	6,0
1.3	Renal Calcium Leak	3	20,4	+	8,5
2.1	Hyperabsorber	3	26,8	+	6,7
2.2	Nicht klassifizierbare Hypercalciurie	9	23,9	+	6,6
2.3	Renal Phosphorus Leak	8	21,5	+	6,8
2.4	Renal Calcium Leak	6	20,9	+	5,7
3.1	Hyperabsorber	3	26,8	+	6,7
3.2	Renal Calcium Leak	3	21,4	+	3,4
3.3	Nicht klassifizierbare Hypercalciurie	4	20,7	+	7,4
3.4	Renal Phosphorus Leak	2	17,0	+	9,5
6.1	Hypomagnesiurie	3	23,1	+	1,1
6.2	Infekt	3	19,0	+	3,2
6.3	Verschiedene andere Ursachen (vgl. S. 19)	6	19,4	+	5,9
6.4	Unauffällig	6	21,8	+	3,5

Die in 1 - 3 wechselnde Rangfolge der einzelnen Störungen des Calciumstoffwechsels zeigt, daß weder der Typ der Störung noch eine eventuelle Kombination mit Hyperuricosurie im vorliegenden Fall einen dominierenden Einfluß ausüben.

Einzelne aus dem Rahmen fallende Untergruppen (z.B. 2.1, 3.4) sind zu klein, um generalisierende Schlußfolgerungen zu erlauben, d.h. es ist nicht möglich, gewisse, insbesondere erniedrigte mittlere APRT-Aktivitäten bestimmten metabolischen Konstellationen der betreffenden Art zuzuordnen.

Eine Übersicht über die mittlere APRT-Aktivität bei den Patienten der einzelnen metabolischen Gruppen und Untergruppen gibt Tab.4:

	Hypercalciurie (HC)					ØHC	Σ
	HA	r Cl	r Pl	Ø k	1-4		
Ø Hyperuricosurie	26,8	21,4	17,0	20,7	21,8	20,7	21,5
Hyperuricosurie	--	20,4	23,0	26,4	23,7	19,4	21,4
	26,8	20,9	21,5	23,9	22,8	20,1	21,3

Tab. 4

Angabe der mittleren APRT-Aktivität in n mol/mg Prot./h. Der Umfang der einzelnen Gruppen ist Tab. 1 (Seite 20) zu entnehmen. Wie dort steht HA für Hyperabsorber, rCl für renal Calcium leak, r Pl für renal Phosphorus leak, und Ø k für die nicht klassifizierbare Hypercalciurie.

3. 3.3 Einfluß der Medikation

3. 3.3.1 Patienten vor/nach Medikation

Bei einer kleinen Anzahl (n = 4) von Patienten konnte die APRT-Aktivität vor und nach (mehrmonatiger) Medikation gemessen werden. Sämtliche Patienten waren im Intervall beschwerdefrei.

Die Ergebnisse zeigt Tabelle 5 (alle Benennungen wie Tab. 1 + 4):

Gruppe	APRT vor Med.	Zyloric ^R	Esidrix ^R	APRT nach Med.
HU, Ø k	26,7	+	+	13,8
HU, rPl	26,9	+	+	13,9
HU	28,0	+	-	18,1
HU, rCl	39,9	-	+	18,0

Tab. 5

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß Allopurinol (Zyloric^R) und - in noch stärkerem Maße Hydrochlorothiazid (Esidrix^R) die APRT-Aktivität absenken. Zu bedenken ist jedoch, daß die Patienten parallel zur Medikation anderen Einflüssen (Steigerung der Trinkmenge, diätische Maßnahmen, Beschwerdefreiheit) ausgesetzt waren und daß der kleine Umfang der Stichprobe keine Signifikanztestung (t-Test für abhängige Stichproben, mit Paarbildung) zuläßt.

Ein drastischer Einfluß der Medikation - wie er sich in Tab. 5 andeutet - müßte auch die individuellen Schwankungen durchschlagen und bei der im folgenden untersuchten Gruppierung der Patienten nach Medikation sichtbar werden.

3. 3.3.2 Vergleich der nach Medikation gruppierten Patienten

Die mittlere APRT-Aktivität der nach Medikation gruppierten Patienten (vgl. 2.1.6.3) wurde ermittelt:

1. einmal unter Berücksichtigung der im vorhergehenden Abschnitt genannten Doppelmessungen
2. einmal bei Elimination dieser vier Patienten.

Die Ergebnisse, für 1. und 2. getrennt und nach ansteigender mittlerer APRT-Aktivität (in 1.) geordnet, zeigt Tab. 6.

Gruppe	(1)		(2)	
	APRT	+ SD	APRT	+ SD
Nur Hydrochlorothiazid	18,6	+ 3,6	18,8	+ 4,2
Alle Hydrochlorothiazid	19,2	+ 5,3	20,3	+ 5,5
Hydrochlorothiazid + Allopurinol	19,6	+ 6,4	21,5	+ 6,3
Alle Allopurinol	20,2	+ 7,4	21,3	+ 7,7
Nur Allopurinol	20,9	+ 8,6	21,2	+ 9,1
Keine Medikation	22,2	+ 5,9	21,3	+ 5,2

Tab. 6

Der Aufbau dieser Tabelle entspricht Tab. 2 (S. 21), die auch den Umfang der einzelnen Gruppen angibt. Angabe der APRT-Aktivität in n mol/mg Prot./h.

Die Tabelle zeigt, insbesondere in Block (1), eine niedrigere Aktivität der Hydrochlorothiazid-Gruppen, eine geringfügige Erniedrigung unter Allopurinol und keine potenzierenden Effekte der beiden Medikamente.

Eine einfache Varianzanalyse ist nur innerhalb des Blockes (2) möglich, da (1) wegen der Doppelmessungen nicht aus unabhängigen Stichproben besteht. Sie zeigt, daß sich die Mittelwerte der einzelnen Gruppen in (2) nicht signifikant unterscheiden. Damit können Effekte der Medikation nicht mit einer gewissen Irrtumswahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden; sie lassen sich aber aus dem vorliegenden Material unter Grundlegung einer vernünftigen Irrtumswahrscheinlichkeit ($\alpha \leq 5\%$) auch nicht ableiten.

Dieses Ergebnis könnte u.a. dadurch bedingt sein, daß eventuelle Effekte der Medikation durch gegenläufige Effekte konterkariert werden. Ein möglicher Gegeneffekt schien in Abschnitt 3.3.2 auf (vgl. S. 45).

Dort wird sichtbar, daß Hypercalciuriker im Mittel höhere (wenn auch nicht signifikant höhere) APRT-Aktivitäten aufweisen als die sonstigen Calciumrolithiasis-Patienten.

Die Behandlung eines Teiles dieser Patienten mit Hydrochlorothiaziden könnte nun eventuell dafür verantwortlich sein, daß der Mittelwert der Hypercalciuriker nicht deutlicher erhöht ist. Ein solcher (hypothetisch) erhöhter Ausgangswert könnte umgekehrt eine potenziell aktivitätsmindernde Wirkung der Hydrochlorothiazide konterkarieren, d.h. die Wirkung käme im Mittelwert der in der Regel hypercalciurischen Hydrochlorothiazidgruppe nicht zum Ausdruck. Ob solche Maskierungseffekte vorliegen, soll im folgenden untersucht werden.

3.2.4 Einteilung nach metabolischen Untergruppen und Medikation

Eine vergleichende Gegenüberstellung der Patienten der beiden metabolischen Hauptgruppen mit/ohne entsprechende Medikation müßte eventuelle von den beiden Einflußfaktoren ausgehende gegenläufige Effekte aufdecken. Die entsprechenden Ergebnisse zeigt Tab. 7, wieder mit (1) und ohne (2) Doppelmessungen und nach absteigender mittlerer APRT-Aktivität (n mol/mg Prot./h) in (1) geordnet. Angabe des Umfanges der einzelnen Gruppen in Tab. 3 (S. 23).

Gruppe	(1)		(2)	
	APRT	+ SD	APRT	+ SD
Hypercalciurie ohne Hydrochlorothiazid	24,6	+ 7,8	23,3	+ 7,4
Hyperuricosurie ohne Allopurinol	23,4	+ 6,6	21,0	+ 5,0
Hyperuricosurie mit Allopurinol	20,2	+ 7,4	21,2	+ 7,8
Hypercalciurie mit Hydrochlorothiazid	19,8	+ 5,4	21,6	+ 5,2

Tab. 7

Insbesondere in Block (1) zeigen sich hohe Aktivitäten für hypercalciurische Patienten ohne Hydrochlorothiazid und niedrige Werte für diese Patienten mit entsprechender Medikation, d.h. Hydrochlorothiazid drückt den "eigentlich" stärker erhöhten Mittelwert aller hypercalciurischen Patienten bzw. der Status als Hypercalciuriker hebt den Mittelwert der "eigentlich" niedrigeren Hydrochlorothiazidgruppe.

Ähnlich - wenn auch abgeschwächt - liegen die Verhältnisse für Hyperuricosurie und Allopurinolmedikation, allerdings nur in Block (1), d.h. getragen nur durch die (anderweitig beeinflussten?) Doppelmessungen.

Die Mittelwertsdifferenz von Hypercalciurikern mit/ohne Hydrochlorothiazidmedikation in Block (2) (nur dort liegen unabhängige Stichproben vor) ist statistisch nicht signifikant.

Die auch nach Elimination der Doppelmessungen noch sichtbare Differenz der Mittelwerte ergibt sich mit einer Wahrscheinlichkeit von mehr als 5 % bei Stichproben aus einer Grundgesamtheit, d.h. die Behauptung, mit Hydrochlorothiazid behandelte Patienten hätten eine andere APRT-Aktivitäts-Verteilung als unbehandelte Hypercalciuriker, läßt sich zwar nicht ausschließen aber auch nicht mit hinreichender Sicherheit ($\alpha \leq 5\%$) belegen.

4. Diskussion

Unter den insgesamt untersuchten 783 Individuen fand sich kein homozygoter Träger des APRT-Defektes.

259 dieser Individuen sind Dialyse- bzw. Nephrolithiasispatienten, d.h. sie entstammen einem Ausschnitt des Bevölkerungsspektrums, in dem die Frequenz des Defektes höher als im gesamten Spektrum liegen müßte.

Auch wenn man diesen Aspekt stark gewichtet, kann das o.g. Ergebnis nicht verwundern. Die Prävalenz des vollständigen Defektes wird auf ca. 1 : 100.000 geschätzt (Kelley W.N. et al., 1968 (32); Johnson L.A. et al., 1977 (30); Fox I.H. et al., 1977 (22)). Legt man diese Häufigkeit zugrunde, müßte man ca. 70.000 unausgewählte Personen untersuchen, um mit einer wahrscheinlichkeitstheoretischen Chance von $p = 0,5$ mindestens einen Homozygoten zu finden. Reduziert man die angezielte Chance auf $p = 0,1$, d.h. nimmt in Kauf, daß bei sehr vielen Testserien nur jede zehnte mindestens einen Homozygoten aufdecken wird, müßte die einzelne Serie noch immer ca. 10.000 Personen enthalten. ¹⁾

Die hier untersuchte Anzahl solcher Personen (ca. 500) reicht - auch wenn man berücksichtigt, daß es sich nicht um beliebige Personen, sondern um Patienten handelt - bei weitem nicht in die Dimensionen, ab denen man vernünftigerweise damit rechnen kann, auf einen homozygoten Träger des Defektes zu stoßen.

1) Die angegebenen Werte sind über eine Poisson-Verteilung ermittelt. Man kann damit die der Fragestellung genauer entsprechende hypergeometrische Verteilung relativ gut annähern (vgl. Kreyzig E., 1968 (35b), S. 115 f).

Im Hinblick auf die klinischen Manifestationen des Defektes müßte es bei den ausgewählten (Dialyse- und Urolithiasis-) Patienten leichter sein, einen Homozygoten zu finden. Stellen wir - zur Veranschaulichung - die Forderung auf, mit einer guten Chance ($p = 0,9$) bei den ca. 250 untersuchten Dialyse- und Urolithiasis-patienten einen vollständigen APRT-Mangel aufzudecken, müßte die Frequenz des Defektes innerhalb dieser Gruppe bei ca. 1 : 2.500 liegen, d.h. der vollständige APRT-Defekt müßte eine doch relativ häufige Ursache von chronischer Niereninsuffizienz und/oder Urolithiasis sein.

Umgekehrt enthalten die gefundenen Ergebnisse bezüglich der Homozygoten natürlich den Hinweis, daß Frequenzen in der o.g. Größenordnung nicht vorliegen. Wenn H.A. Simmonds und K.J. van Acker (1982, (54), p. 1151) also fordern "Future awareness should allow determination of the real prevalence of homozygosity and establish whether the defect is more frequent than its recent description suggests" - so sprechen die vorliegenden Ergebnisse zumindest gegen eine drastische Anhebung der bisher festgestellten Frequenz. Dies gilt insbesondere auch deshalb, weil ein möglicher Fallstrick bei der Diagnose des vollständigen APRT-Mangels - vorangegangene Bluttransfusion - hier ausgeschaltet wurde.

Einen zweiten Teil bilden die Ergebnisse bezüglich heterozygoter Träger des Defektes. Üblicherweise wird dieser Status mit einer deutlichen Verminderung der APRT-Aktivität (in Erythrocytenlysaten) assoziiert, wobei die Verminderung auf den "Normalwert" bezogen wird: "Heterozygotes for APRT deficiency generally have less than 50 percent of normal activity, the majority showing levels 25 to 30 percent of the normal mean" (Simmonds H.A. et al., 1982 (54), p. 1147).

Betrachtet man die vorliegenden Ergebnisse zunächst in Bezug auf diesen "normal mean" so stellt man fest:

1. Der gefundene Mittelwert für das Normalkollektiv (28,9 n mol/mg Prot./h) liegt durchaus im Rahmen - wenn auch an der oberen Grenze - der bisher berichteten Werte: "Different laboratories report the mean specific activity of APRT in erythrocyte hemolysates (dialyzed or undialyzed) at being between 20 to 30 n mol/h per milligram of protein (or hemoglobin) (Simmonds H.A. et al., 1982 (54), p. 1147). Dieses Ergebnis spricht dafür, daß die verwendete Meßtechnik gut an den internationalen Standard angepaßt ist und die bayerische Bevölkerung eher eine höhere mittlere APRT-Aktivität aufweist.

2. "Der Mittelwert" - auf den dann die APRT-Aktivität der potentiell Heterozygoten bezogen wird - ist möglicherweise keine sinnvolle Kategorie. Die Mittelwerte der drei großen hier untersuchten Kollektive (Normal-, Dialyse- und Steinkollektiv) sind deutlich und statisch hochsignifikant voneinander unterschieden. Auf welchen Wert soll dann die Aktivität eines potentiell heterozygoten Stein- oder Dialysepatienten bezogen werden ?

Dagegen, weiter den Mittelwert des Normalkollektives zugrunde zu legen, spricht insbesondere der Typ der gefundenen Verteilungen. Die APRT-Aktivität bei den Dialyse- und Steinpatienten ist in guter Näherung normalverteilt und damit auch symmetrisch, d.h. die hohen bzw. niederen Mittelwerte kommen nicht durch einige extreme "Ausreißer" nach oben oder unten zustande, sondern die ursprüngliche Verteilung (des Normalkollektives) erscheint einmal nach rechts verschoben und gestreckt (Transformation der Art $y=ax + b$ mit $a > 1$, $b > 0$ beim Dialysekollektiv) und einmal nach links verschoben (Transformation der Art $y=x + b$ mit $b < 0$ beim Steinkollektiv).

Die gefundenen Verteilungen repräsentieren also eher eine Verschiebung des "normalen" Spektrums für die betreffenden Patientengruppen als eine veränderte Heterozygotendichte in diesen Gruppen (z.B. ungewöhnlich viele Heterozygote und damit auch ein erniedrigter Mittelwert bei den Steinpatienten). Wie sich das Problem des unvollständigen APRT-Mangels in diesem Licht darstellt, wird im folgenden zu diskutieren sein.

Im Normalkollektiv kann als sicherste Grenze für berechtigten Verdacht auf einen unvollständigen APRT-Defekt eine Aktivität von unter 25% des Mittelwertes dieses Kollektives gelten. Für die 25%-Grenze sprechen empirische Gründe (die meisten Heterozygoten liegen um 25 - 30%, s.o.) und theoretische Überlegungen (vgl. S. 7). Legt man diese Grenze zugrunde, findet man im Normalkollektiv einen Heterozygoten. Es handelt sich um den Patienten, bei dem auch eine Familienuntersuchung durchgeführt werden konnte (vgl. S. 35/36). Auch die Ergebnisse dieser Untersuchung sprechen dafür, daß der betreffende Patient ein heterozygoter Träger des APRT-Defektes ist.

Akzeptiert man diesen Patienten als heterozygot, spräche die vorliegende Untersuchung für eine Frequenz der heterozygoten Form von 0,2%, d.h. der unvollständige Defekt wäre deutlich seltener als bisher angenommen (0,4 - 1%; vgl. S. 7).

Setzt man die Grenze bei 50% des Mittelwertes an (also bei 14,5 n mol/mg Prot./h) kommen weitere drei Personen hinzu. Das Gleiche gilt auch für die etwas höher liegende 2-s-Grenze (17,5 n mol/mg Prot./h).

Diese Grenze wird aus zwei Gründen in die Überlegungen einbezogen:

- Der Wert biologischer Variablen bestimmt sich oft durch das additive Zusammenwirken vieler Faktoren (von denen keiner dominiert) und die Variable ist dementsprechend (nach dem zentralen Grenzwertsatz) normal verteilt.
- Unter der 2-s-Grenze liegen dann (bei strenger Normalverteilung) nur 2,3% der Merkmalsträger, d.h. Werte unter dieser Grenze repräsentieren stets ein gewisses, genau definiertes Extrem, erfordern in diesem Sinne besondere Aufmerksamkeit.

Empirisch erscheint die Verteilung der APRT-Aktivität - obwohl im vorliegenden Fall in guter Näherung normal - am unteren Ende "ausgedünnt", d.h. unter der 2-s-Grenze liegen weniger Personen als bei strenger Normalverteilung gefordert. Dies mag als Hinweis dafür gelten, daß die entsprechenden Extremwerte nicht durch das Wirken vieler unabhängiger Faktoren, sondern durch dominierende Sonderfaktoren (heterozygoter Genotypus) entstanden sind, d.h. daß Personen unter dieser Grenze eher heterozygot sind, als durch eine Serie von kalkulierbaren Zufällen ($p = 0,023$) unter diese Grenze gelangt sind.

Nimmt man die entsprechenden vier Personen, die leider nicht alle einer Familienuntersuchung unterzogen werden konnten, als heterozygot, kommt man auf eine Frequenz von ca. 0,8% für den heterozygoten Status.

Dieses Ergebnis entspricht bisher berichteten (vgl. S. 7) Werten von 0,4 - 1%.

Im Dialysekollektiv spielt - neben dem Problem des Bezugssystems - die Frage "25%-Grenze?, 50%-Grenze?, 2-s-Grenze?" ebenfalls eine Rolle. In aufsteigender Reihenfolge geordnet, mit dem jeweiligen Bezugssystem in Klammern, ergibt sich die Zahl der die Grenze unterschreitenden - und damit partiell heterozygoten - Patienten zu:

25%-Grenze	(Normalkollektiv)	bei 7,2	:	keine Person
2-s-Grenze	(Dialysekollektiv)	bei 10,4	:	keine Person
25%-Grenze	(Dialysekollektiv)	bei 11,2	:	keine Person
50%-Grenze	(Normalkollektiv)	bei 14,5	:	keine Person
2-s-Grenze	(Normalkollektiv)	bei 17,5	:	zwei Personen
50%-Grenze	(Dialysekollektiv)	bei 22,3	:	drei Personen

Die beiden letztgenannten Werte entsprechen einer Frequenz von ca. 1,4% bzw. knapp 2%; d.h. der unvollständige Defekt wäre unter Dialysepatienten fast doppelt so häufig wie bei unausgewählten Patienten.

Die Frage ist aber natürlich, ob diese Individuen (und nur sie?) tatsächlich Heterozygote sind. Unter der "harten" Grenze (25%) liegt - unabhängig vom Bezugssystem - kein Individuum und die eigentlich "weiche" 2-s-Grenze greift nur in Bezug auf das Normalkollektiv und nicht in Bezug auf das Dialysekollektiv, dem die Patienten entstammen. Allerdings erscheint in diesem Kollektiv die 2-s-Grenze "schärfer" als die 25%-Grenze; ein Umstand, der der großen Schwankungsbreite der APRT-Aktivität bei den Dialysepatienten, d.h. der großen Varianz in diesem Kollektiv geschuldet ist.

Durch diesen Umstand befinden sich innerhalb der 2-s-Grenzen (und damit auch über der 25%, evtl. auch über der 50% Grenze) möglicherweise unentdeckte (und durch alleinige Messung der APRT-Aktivität auch unentdeckbare) heterozygote Individuen.

Warum sind diese Individuen möglicherweise nicht identifizierbar ?

Offensichtlich gibt es bei den Dialysepatienten einen Faktor bzw. ein Bündel von Faktoren, das - unabhängig vom APRT-Genotypus (der kaum bei allen Dialysepatienten systematisch verändert sein dürfte) - die gemessene APRT-Aktivität hochtreibt (im Vergleich zum Normalkollektiv) und stark auffächert, insbesondere stärker auffächert (im Sinne einer höheren Varianz) als im Normalkollektiv.

In Abhängigkeit von der Gestalt dieser Faktoren ergeben sich verschiedene Maskierungseffekte:

1. Ein multiplikativ wirkender Faktor in Form einer (für alle Dialysepatienten gleichen) Konstanten führt zu einer Maskierung in Bezug auf das Normalkollektiv (innerhalb dessen der heterozygote Dialysepatient unauffällig erscheint), nicht aber zu einer Maskierung in Bezug auf das Dialysekollektiv (in dem der Heterozygote weiterhin am unteren Rande liegt). Dialysekollektiv und Normalkollektiv würden in einem solchen Falle ja durch eine bloße Maßstabstranformation ineinander überführt werden können.
2. Ein multiplikativ wirkender Faktor in Form einer (für alle Dialysepatienten identisch verteilten) Zufallsvariablen kann zur Maskierung des unvollständigen Defektes sowohl gegenüber dem Normalkollektiv als auch gegenüber dem Dialysekollektiv führen.

Ein kleines Modell mag dies illustrieren:

Sei $\tilde{a}$ eine Zufallsvariable, die die APRT-Aktivität bei Nicht-Dialysepatienten angibt (z.B. $\tilde{a} \sim N(28,9; (5,7)^2)$ wie beim vorliegenden Normalkollektiv).

Bei Dialysepatienten werde dieses $\tilde{a}$ durch eine Zufallsvariable $\tilde{b}$ (z.B. den Grad der Urämie, das Hb oder andere Faktoren repräsentierend) so moduliert, daß gilt:

Gemessene APRT-Aktivität bei Dialysepatienten ($\tilde{c}$) = $\tilde{a}\tilde{b}$
mit Mittelwert $\tilde{b} > 1$ und Varianz $b > 0$.

Durch diese Transformation kann ein heterozygotes Individuum, das in $\tilde{a}$ knapp 50% der mittleren Aktivität zeigte und so "verdächtig wurde" in $\tilde{c}$ mehr als 50% des Mittelwertes von $\tilde{c}$ aufweisen, d.h. maskiert sein.

Man kann diesen Gedanken an eine Modulation der "ursprünglichen" APRT-Aktivität natürlich auch schon auf das Normalkollektiv anwenden. Dort würde die genetisch bestimmte APRT-Aktivität (die z.B. für Heterozygote sehr eng um 25% des Mittelwertes streuen könnte) durch eine um den Wert 1 streuende, aber den Wert 2 kaum überschreitende Zufallsvariable so moduliert, daß Heterozygote meist um 25%, aber auch bis zu 50% des Mittelwertes aufweisen. Die Niereninsuffizienz könnte in dieser Sichtweise die Modulation so verstärken, daß die 50%-Grenze nicht mehr eingehalten wird.

3. Auch ein additiv wirkender Faktor (in der oben angeführten Terminologie also $\tilde{c} = \tilde{a} + \tilde{b}$) kann zu Maskierungen führen. Bei relativ hohem Mittelwert und relativ kleiner Varianz von $\tilde{b}$ kann ein in $\tilde{a}$ sich ausdrückender heterozygoter Effekt durch die egalisierende Wirkung der Addition "versteckt werden"; eine große Varianz von $\tilde{b}$ erhöht zusätzlich die Chance, daß ein Heterozygoter besonders weit nach oben transformiert und damit kaschiert wird.

Bevor die formale Struktur des die APRT-Aktivität modulierenden Faktors näher aufgeklärt werden kann (was dann eventuell eine "Demaskierung" versteckter Heterozygoter erlauben würde), muß natürlich eine Vorstellung darüber bestehen, welche Parameter in diesem Faktor eingehen. Die Hypothesen oder gar Antworten zu diesem Problemkreis sind in der Literatur sehr dünn gesät, was wohl nicht zuletzt darauf zurückzuführen ist, daß die hier festgestellte Erhöhung der APRT-Aktivität bei Dialysepatienten erst in jüngerer Zeit auch von anderen Autoren berichtet wurde (Becher H.J. et al., 1980 (8); Mansell M.A. et al., 1981 (38a)).

Bereits seit längerem bekannt ist eine Erhöhung der APRT-Aktivität in den Erythrocytenlysaten von Neugeborenen (vgl. Borden M. et al., 1974 (8a)) und bei Lesch-Nyhan-Patienten (Bakay B. et al., 1969 (4a)); Seegmiller J.E. et al., 1967 (51a); Sweetmann L. et al., 1972 (61a); Kelley W.N., 1968 (31a)).¹⁾

Erklärt werden diese Beobachtungen von den genannten Autoren meist mit einer Stimulierung bzw. Stabilisierung des Enzyms durch die bei den betreffenden Personen ebenfalls erhöhten Spiegel des APRT Substrates PRPP.

Borden (1974 (8a)) sieht zusätzlich eine Abhängigkeit der APRT-Aktivität vom Altersaufbau der Erythrocytenpopulation:

"It was concluded that the elevated activity of APRT in the neonate reflected partly a young population of cells and partly a stabilization of APRT by PRPP against the inactivation of aging" (Borden M. et al., 1974 (8a) p. 35).

1)

Eine erhöhte APRT-Aktivität in den Erythrocytenlysaten findet man auch bei OPRT:ODC und PNP-Mangel (vgl. Simmonds H.A. et al., 1982 (54), S. 1147).

Zumindest der zweite Teil dieser Begründung - hohe in vivo APRT-Aktivität durch erhöhte PRPP-Spiegel - ist in letzter Zeit wegen gegensätzlichen Beobachtungen ¹⁾ in Zweifel gezogen worden (vgl. Simmonds H.A. et al., 1982 (54), S. 1147).

Diese Hinweise betreffen auch die Erhöhung der APRT-Aktivität bei Dialysepatienten, da zu ihrer Erklärung im Analogschluß auf die bereits seit längerem bekannten Erhöhungen zurückgegriffen wird.

So schreiben Mansell et al. (1981 (38a)) in ihrer Untersuchung "Effect of renal failure on erythrocyte purine nucleotide, nucleoside and base concentrations and some related enzyme activities" unter Berufung auf Borden (1974 (8a)):

"Substrate stabilization of adenine phosphoribosylpyrophosphate has been described and analogous mechanism may apply in the present case" (Mansell M.A. et al., 1981 (38a) p. 763).

Anzumerken ist, daß diese Arbeitsgruppe zwar eine Erhöhung der APRT-Aktivität bei Niereninsuffizienten registriert, diese Erhöhung aber als statistisch nicht signifikant einstuft (Signifikanzniveau $\alpha = 5\%$ im ungepaarten t-Test, vgl. p. 761). Dieses von den hier berichteten Ergebnissen abweichende Ergebnis mag in den sehr kleinen Fallzahlen (untersucht wurden nur 15 niereninsuffiziente Patienten) und in den insgesamt sehr tief liegenden Meßwerten (als Normalwert für die APRT-Aktivität wurden nur ca. 30 % der üblichen Normwerte gefunden) begründet liegen.

1)

So zeigen z.B. Kulturen von Zellen mit HPRT-Mangel trotz erhöhter PRPP-Spiegel eine normale APRT-Aktivität und beim OPRT:ODC-Defekt ist die APRT-Aktivität in Erythrocytenlysaten trotz normaler PRPP-Spiegel erhöht (vgl. Simmonds H.A., et al., 1982 (54), S. 1147).

Die von Mansell als Ursache für eine erhöhte APRT-Aktivität herangezogenen PRPP-Spiegel sind nach seinen Untersuchungen bei Niereninsuffizienten auch nicht systematisch erhöht (Mansell M.A. et al., 1981 (38a) p. 761). Eine ausgeprägte und streng mit dem Serumkreatinin korrelierende Erhöhung findet er dagegen für den ATP-Gehalt der Erythrocyten urämischer Patienten (p. 762).

Becher H.J. et al (1980 (8)), die eine den hier berichteten Ergebnissen entsprechende Erhöhung der APRT-Aktivität bei Urämikern finden ($M \pm SD$ bei 15 Patienten mit chronischer Urämie: $41,3 \pm 5,8 \text{ nmol/mg Prot./h}$ gegenüber $29,3 \pm 3,9 \text{ nmol/mg Prot./h}$ bei 15 Kontrollpersonen) greifen in der Erklärung dieses Phänomens ebenfalls auf Borden (1974 (8a)) zurück und untersuchen wie dieser - die APRT-Aktivität auch in verschiedenen alten Erythrocytenfraktionen. Die Spekulation dabei ist natürlich, daß die - wegen einer Verkürzung der Erythrocytenlebenszeit durch die Urämie - bei den Urämikern überrepräsentierten jüngeren Erythrocyten eine besonders hohe APRT-Aktivität aufweisen.

Dies ist zwar der Fall, doch findet sich eine Erhöhung der APRT-Aktivität "in allen Fraktionen der urämischen Erythrocyten" (Becher H.J. et al., 1980 (8) S. 1243).

Die Erhöhung der APRT-Aktivität bei Dialysepatienten kann also zumindest nicht allein durch die hypermetabolische Aktivität jüngerer Erythrocyten erklärt werden.

Möglicherweise spielt in diesem Zusammenhang ein Faktor eine Rolle, den Becher et al. auch konstatieren, aber nur als Folge und nicht als Ursache erhöhter APRT-Aktivitäten sehen: der erhöhte ATP-Gehalt in den Erythrocyten urämischer Patienten.

Im Rahmen einer Diskussion des erhöhten ATP-Gehaltes urämischer Erythrocyten stellen die Autoren fest: "Although in uremia the enhanced glycolysis appears to be an important and well-recognized factor in the increase of intracellular adenine nucleotides, an elevated ATP synthesis via salvage pathway could play a supportive role" (Becher H.J. et al., 1980 (8) S. 1244).

Andererseits kann aber - wie Murray (41b) schon 1967 gezeigt hat - ATP in Abhängigkeit von seiner Konzentration und vom pH (mit einem Maximum bei relativ geringen ATP-Konzentrationen und im sauren Bereich) die APRT-Aktivität stimulieren.

Dieses von Murray (1967 (41b)) dargelegte Effektormodell mag einen Beitrag zur Erklärung der erhöhten APRT-Aktivität bei Dialysepatienten liefern, sicherlich ist die Kontrolle der APRT-Aktivität durch die jeweilige lokale in vivo Konzentration von ATP, AMP (Produktinhibition) und dem Substrat PRPP aber in ihrer Komplexität noch zu wenig aufgeklärt, um den weiter oben angesprochenen, die APRT-Aktivität bei Dialysepatienten erhöhenden Faktor isolieren und so eventuell maskierte heterozygote Dialysepatienten identifizieren zu können.

Bei den Steinpatienten findet man eine im Vergleich zum Normalkollektiv deutlich erniedrigte APRT-Aktivität in den Erythrocytenlysaten. Die Mittelwerte der beiden Verteilungen sind statistisch hoch signifikant verschieden (Signifikanzniveau $\alpha < 1\%$).

Gemessen an der 25%-Grenze des Normalkollektives liegt die Heterozygotendichte bei den Steinpatienten dennoch innerhalb des üblichen Rahmens: Nur ein Patient (d.h. weniger als 1 % aller untersuchten Steinpatienten) unterschreitet diese Grenze.

Legt man allerdings die 50 %- bzw. 2-s-Grenze (bezogen auf das Normalkollektiv) zugrunde, steigt die Dichte sprunghaft an: 18 bzw. 31 Patienten wären in dieser Sichtweise heterozygote Träger des APRT-Defektes.

Spricht man den Steinpatienten einen eigenen Standard zu (wofür die signifikante Differenz zum Normalkollektiv sprechen würde), "normalisieren" sich die Zahlen wieder: Bezogen auf das Steinkollektiv liegt unter 25 % kein Patient, unter der 2-s-Grenze ein Patient und unter der 50%-Grenze vier Patienten.

Zur Debatte stehen im wesentlichen also zwei Möglichkeiten:

1. Im Vergleich zum Normalkollektiv befinden sich im Steinkollektiv überdurchschnittlich viele heterozygote Träger des APRT-Defektes und möglicherweise sind diese Personen durch ihre erniedrigte APRT-Aktivität zu Steinpatienten geworden.
2. Ähnlich wie Dialysepatienten - nur in umgekehrter Richtung wirkend - weisen Steinpatienten - oder zumindest gewisse Typen von Steinpatienten - irgendwelche sie von anderen Patienten unterscheidenden Parameter auf, die zu einer Senkung der in den Erythrocytenlysaten gemessenen APRT-Aktivität führen.

Der physiologische Mechanismus, mit dem die unter 1. genannte Vermutung am ehesten begründet werden könnte, wäre eine erhöhte renale Adenin-Ausscheidung bei heterozygoten Trägern des APRT-Defektes. Genau dieses wird aber in den meisten Untersuchungen bestritten: "Heterozygotes do not excrete detectable amounts of adenine or its metabolites" (Simmonds H.A., 1982 (54) p. 1146 unter Verweis auf Van Acker K.J. et al., 1977 (2); Barratt T.M. et al., 1979 (7) und Simmonds H.A., 1977 (55)). Mit in dieses Bild vom "unauffälligen Heterozygoten" paßt auch, daß heterozygote Individuen zwar eine erniedrigte APRT-Aktivität in Erythrocytenlysaten zeigen, ihre intakten Erythrocyten aber bei physiologischen Adenenspiegeln eine normale APRT-Aktivität aufweisen (Dean B.M. et al., 1978 (15)).

Demgegenüber haben japanische Autoren 52 Fälle "with partial APRT deficiency" geprüft und fanden dabei sechs Fälle von Urolithiasis, davon vier DHA-Steine. Weil die meisten der untersuchten Fälle APRT-Aktivitäten von über 20 % des "normal value" haben, die Patienten mit DHA-Steinen aber unter 29 % liegen, wird gefolgert, "that there is no significant difference on the mechanism of dihydroxyadenine stone formation between complete defect and markedly decreased activity of APRT" (Sakamoto K. et al., 1981 (48)p. 278).

Da nach bisherigen Vorstellungen die Bildung von 2,8-DHA-Steinen bei vollständigem APRT-Defekt einfach auf der erhöhten DHA-Konzentration im Urin beruht, würde diese Aussage beinhalten, daß die Adenin- bzw. DHA-Ausscheidung um so höher liegt, je niedriger die in den Erythrocytenlysaten gemessene APRT-Aktivität ist. Eine solche Korrelation kann aber sicher nicht allein durch die von den japanischen Autoren genannte Argumentationskette begründet werden. Notwendig wäre eine systematische Messung der renalen Adeninexkretion (möglichst unter standardisierten diätischen Bedingungen) bei Personen, die wiederholt eine deutlich verminderte APRT-Aktivität in ihren Erythrocytenlysaten aufweisen.

Relevant in unserem Zusammenhang wären dabei schon Veränderungen gegenüber der Norm, die noch lange nicht zur Bildung von DHA-Konkrementen führen. Die erniedrigte APRT-Aktivität findet sich im vorliegenden Fall ja nicht in einem DHA-Steinkollektiv, sondern "schon" bei Calcium- und Harnsäuresteinen. Zu denken wäre also an einen Mechanismus, bei dem eine selbst zur Auskristallisation neigende Substanz die Bildung von Konkrementen anderer Zusammensetzung fördert.

Ein Beispiel für einen solchen Zusammenhang ist die als Risikofaktor für Calciumurolithiasis geltende Hyperuricosurie (vgl. z.B. Coe F.L., 1978 (13)). Auch das in der vorliegenden Arbeit untersuchte Calciumstein-Kollektiv ist stark von diesem Risikofaktor geprägt. Bei der Hälfte aller Calciumsteinträger fand sich eine Hyperuricosurie, womit die Hyperuricosurie sogar knapp vor der Hypercalciurie lag (vgl. 2.1.6.2.). Inwieweit dem statistischen Zusammenhang ein kausaler Mechanismus zugrunde liegt und welcher Mechanismus das sein könnte, ist noch umstritten.

Eine epitaxiale Anlagerung von Calcium an Natriumuratkristalle im Rahmen der heterogenen Nukleation wurde zwar nachgewiesen, aber im Urin von Hyperurikosurikern finden sich üblicherweise nur Urat- und keine Natriumuratkristalle. Heterogene Nukleationsprozesse zwischen Calcium und Urat lassen sich jedoch in vitro schwer nachvollziehen (Coe F.L., 1978 (13)). Möglicherweise dient also die Hyperuricosurie nur als Indikator für die generell zur Steinbildung disponierende Hyperalimentation, ohne selbst kausal in die Lithogenese einzugreifen.

Andererseits sind in der letzten Zeit auch verstärkt Mechanismen diskutiert worden, die doch einen kausalen Zusammenhang begründen könnten. Es geht dabei um die Neutralisierung bzw. den Verbrauch von Inhibitoren der Steinbildung (z.B. dem Makromolekül Glycosaminoglycan) durch Urate (Fellström B. et al., 1982 (21a)). Die Hyperuricosurie fördert in dieser Sichtweise die Calciumurolithiasis nicht direkt (durch heterogene Nukleation) sondern indirekt (durch Verbrauch von Inhibitoren kristallisiert Calcium schon bei geringeren Konzentrationen aus).

Ist schon die Rolle der Harnsäure im komplexen Prozeß der Lithogenese ungeklärt, gilt dies erst recht für Adenin und seine Derivate. Es gibt keine systematischen Überlegungen darüber, wie Adenin oder DHA in die Calciumsteinbildung eingreifen könnte. In der hypothetischen Kausalkette - verminderte APRT-Aktivität — erhöhte Adeninausscheidung - verstärkte Steinbildungsneigung - ist aber nicht nur der zweite, sondern - wie oben ausgeführt - auch der erste Schritt alles andere als belegt, d.h. die verminderte APRT-Aktivität kann nach den bisherigen Erkenntnissen keinesfalls als belegter Risikofaktor für Urolithiasis angesehen werden. Dies gilt nicht nur für die oben angesprochenen kausalen Zusammenhänge, die ja bei vielen Risikofaktoren nicht vollkommen aufgeklärt sind, sondern auch für die rein statistische Seite.

Es gibt keine Studie über die APRT-Aktivität bei Urolithiasispatienten, an der die vorliegenden statistischen Ergebnisse gemessen werden könnten, die Registrierung von Nicht-adeninhaltigen Steinen im familiären Umfeld von Trägern des APRT-Defektes trägt einen mehr zufälligen als systematischen Charakter ¹⁾, der APRT-Defekt wird weder in diesen vereinzelten Berichten noch in anderen Zusammenhängen als Ursache oder Mit-Ursache für diese Art der Urolithiasis gesehen.

In einer solchen Situation kann es durchaus vernünftig sein, relativ "blind" nach Korrelationen zu suchen, d.h. auch die Zusammenhänge statistisch zu prüfen, die von kausalen Überlegungen her zunächst "unverdächtig" sind.

1)

Berichtet wird über Steinepisoden bei den Eltern mehrerer Heterozygoter, einer der Steine konnte als Calciumoxalat-Stein identifiziert werden (Simmonds H.A. et al., 1982 (54) p. 1146).

Üblicherweise wird man dabei mit den "Ausreißern" anfangen und versuchen, Merkmale aufzudecken, die dieser Gruppe gemeinsam sind. Nun gibt es aber im vorliegenden Fall - bis auf eine Ausnahme, die sicher näher untersucht werden sollte, - keine solchen "Ausreißer". Die Senkung der mittleren APRT-Aktivität wird vielmehr von vielen Patienten getragen, der übliche Verteilungstyp (Normalverteilung) wird beibehalten. Den im Rahmen dieser Verteilung besonders tief liegenden Individuen können keine bestimmten Merkmale zugeordnet werden, es konnte keine Untergruppe identifiziert werden, von der man vernünftigerweise annehmen kann, sie sei im wesentlichen für die beobachtete Aktivitätsniedrigung verantwortlich.

Gelingt es so nicht, innerhalb der Steinpatienten eine Spur zu finden, sollte als nächster Schritt die Gruppe der Steinpatienten mit einer ähnlich aufgebauten ("matched") Gruppe von Nicht-Steinträgern verglichen werden.

Die Steinpatienten stellen einen Ausschnitt aus dem Bevölkerungsspektrum dar, der in vielfältiger Weise nicht repräsentativ ist. So findet man z.B. eine verstärkte Disposition zur Steinbildung bei Männern, Steinbildner zeigen oft bestimmte Ernährungsgewohnheiten, wie Hyperalimentation und geringe Flüssigkeitsaufnahme.

Möglicherweise sind es solche Faktoren - und nicht die Tatsache, daß jemand Steinträger ist - die mit der erniedrigten APRT-Aktivität zusammenhängen.

Angesichts der Menge der in Frage kommenden Faktoren (prinzipiell geht die Zahl der Merkmale, in der sich Steinpatienten vom Durchschnitt der Bevölkerung unterscheiden könnten gegen Unendlich) erscheint die Chance, einen solchen Anhaltspunkt zu fangen, allerdings nicht sehr groß. Dazu kommt, daß bei vielen Faktoren, nach denen "gematched" werden könnte, ein Einfluß auf die APRT-Aktivität unwahrscheinlich erscheint.

So stehen z.B. sicher mehr Steinpatienten unter Allopurinol- bzw. Hydrochlorothiazidmedikation als dem Durchschnitt der Bevölkerung entspricht. Wenn aber (nach den vorliegenden Ergebnissen) zwischen Steinpatienten mit/ohne Medikation kein signifikanter Unterschied in der APRT-Aktivität festzustellen ist, warum sollte dann bei Nicht-Steinträgern ein solcher Unterschied bestehen (und die APRT-Aktivität der "gematchten" Gruppe unter den "Normalwert" drücken)?

Gedacht werden könnte aber z.B. daran, daß allein durch die Erhöhung der Fallzahlen angedeutete Unterschiede (vgl. 3.3.3.) in eine signifikante Aussage (vgl. 2.3.2.) "umschlagen".

Bei anderen Faktoren, wie z.B. dem Geschlecht, sind auch nach umfangreichen Untersuchungen (so z.B. im vorliegenden Normalkollektiv) keine signifikanten Unterschiede in der APRT-Aktivität bekannt, d.h. auch wenn die Männer unter den Steinträgern stark überrepräsentiert sind, dürfte das die mittlere APRT-Aktivität dieser Gruppe nicht senken.

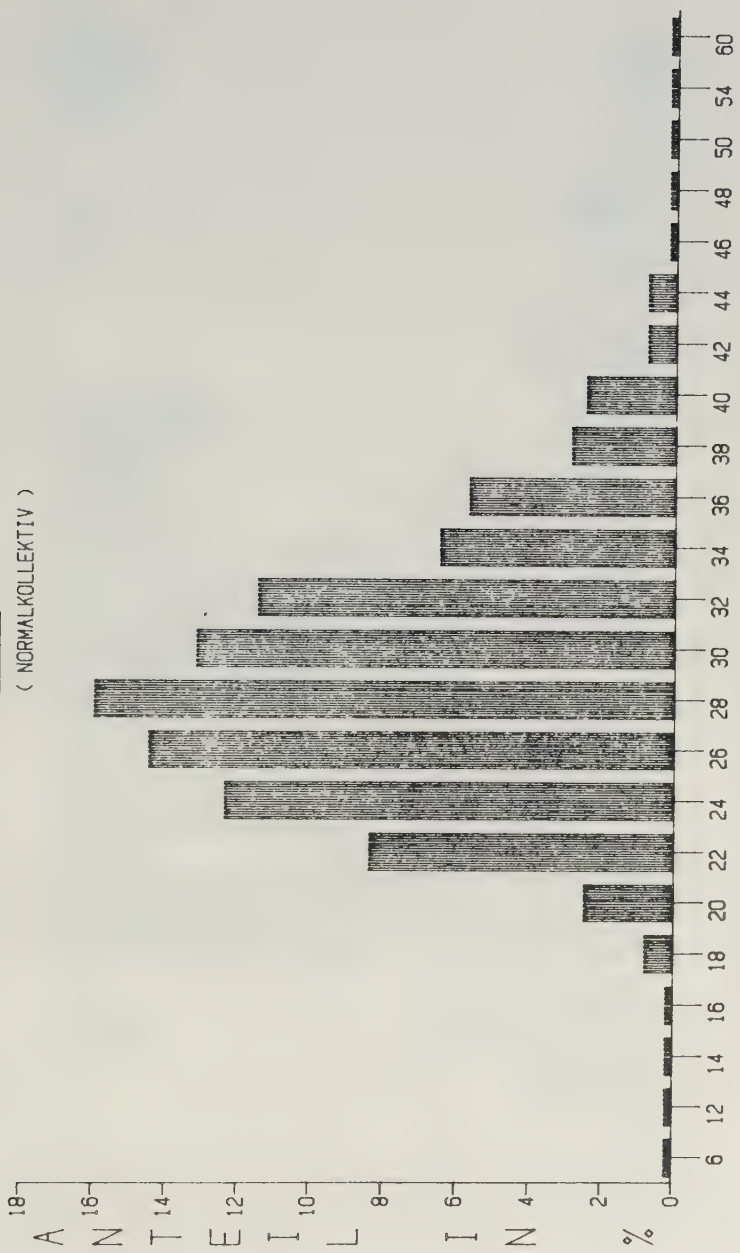
Trotz der genannten Schwierigkeiten sollten aber Kontrollen zum vorliegenden Steinkollektiv und insbesondere zusätzliche Steinpatienten mit entsprechenden Kontrollgruppen untersucht werden, um den Verdacht, eine erniedrigte APRT-Aktivität stelle einen unspezifischen Risikofaktor für Urolithiasis dar, entweder weiter zu erhärten und möglicherweise näher zu spezifizieren - oder aber um ihn zu entkräften und für die bisherigen Beobachtungen andere Erklärungen zu finden.

Parallel zur weiteren Absicherung der statistischen Seite sollte eine Untersuchung der möglichen kausalen Zusammenhänge erfolgen. Auch wenn ein solcher Zusammenhang - wie oben aufgeführt - nicht sehr wahrscheinlich ist - die Verbindung zwischen eingeschränkter APRT-Aktivität, renaler Adeninausscheidung und Lithogenese sollte zumindest an einigen exemplarischen Fällen bzw. durch in-vitro-Versuche geprüft werden.

L E G E N D E
zu den Figuren 1 - 10

In den folgenden Figuren beziehen sich die prozentualen Anteile auf die Gesamtzahl der Personen des jeweiligen Kollektives. Klasse 2 umfaßt Werte von 1,1 bis 2,9, Klasse 4 von 3,1 bis 4,9 usw.. Fällt ein Wert auf eine Klassengrenze, wird er den beiden Klassen je zur Hälfte zugeschlagen. Klassen in die keine Person fällt, wurden z.T. aus den Figuren eliminiert.

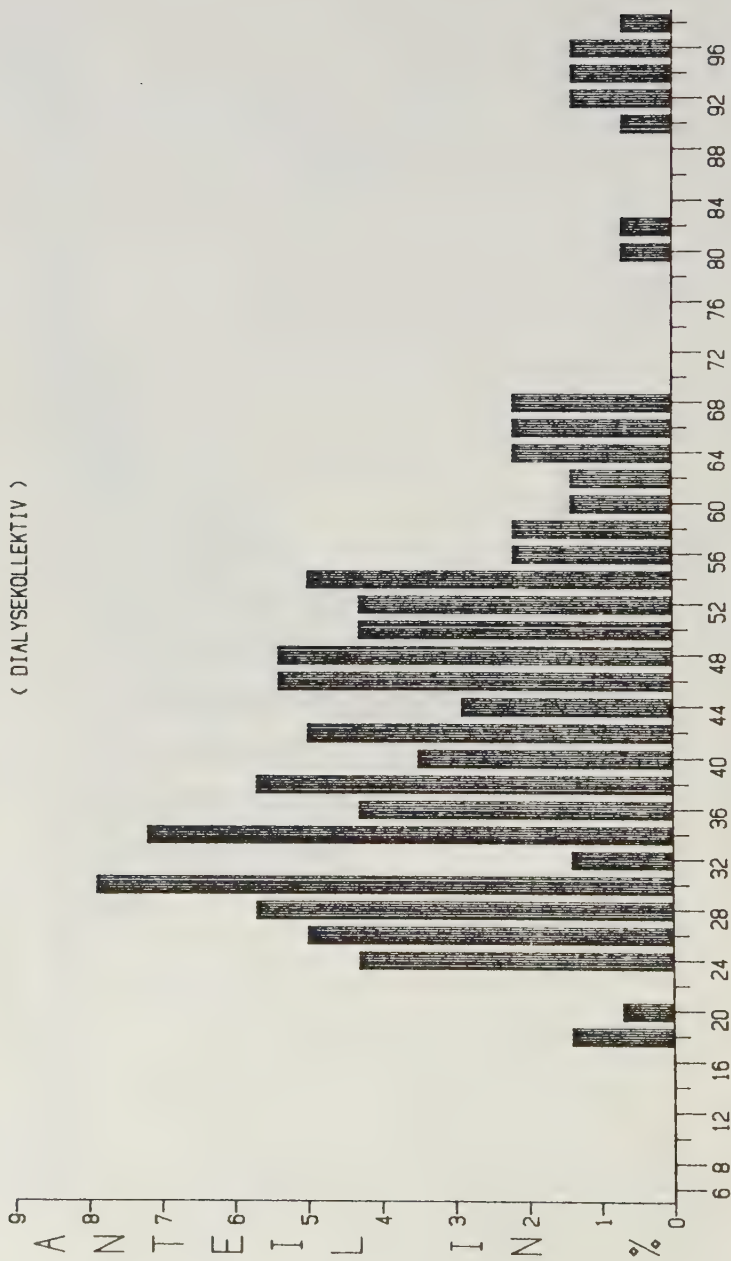
FIG. 1
(NORMALKOLLEKTIV)



APRT-AKTIVITAET (nmol/mg Prot./h)

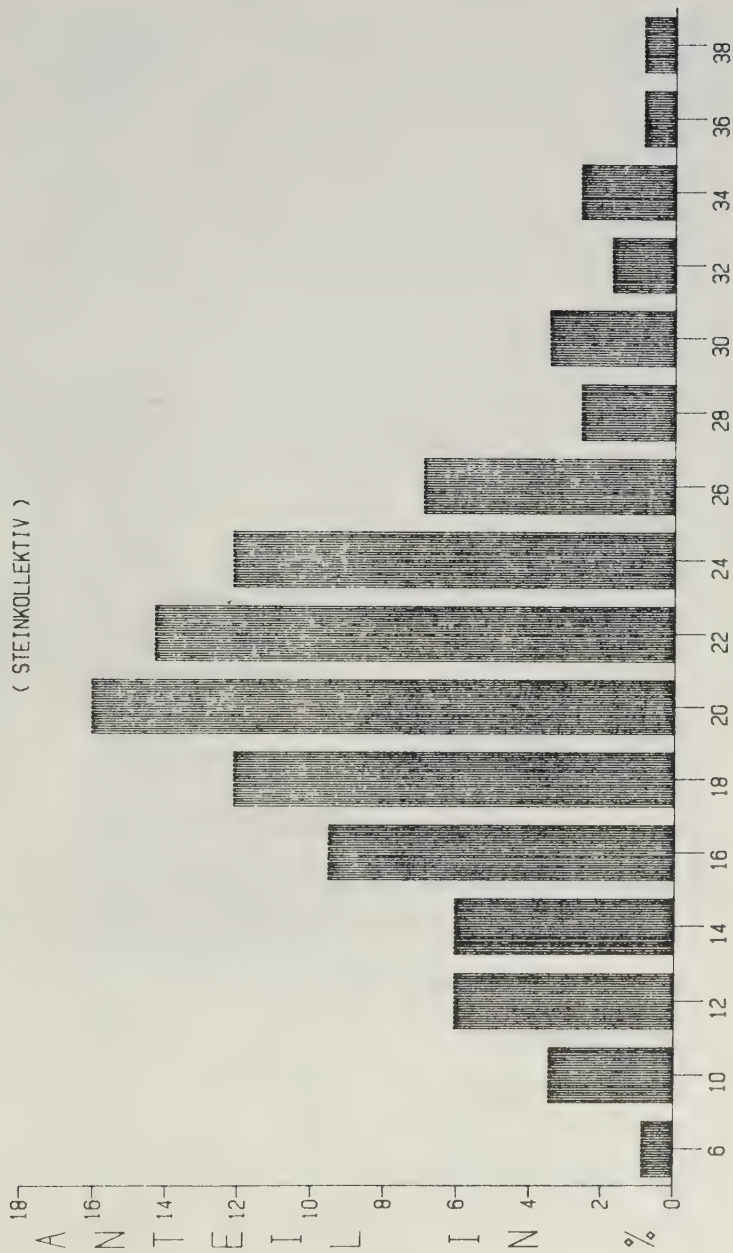
FIG. 2

(DIALYSEKOLLEKTIV)



APRT-AKTIVITÄT (nmol/mg Prot./h)

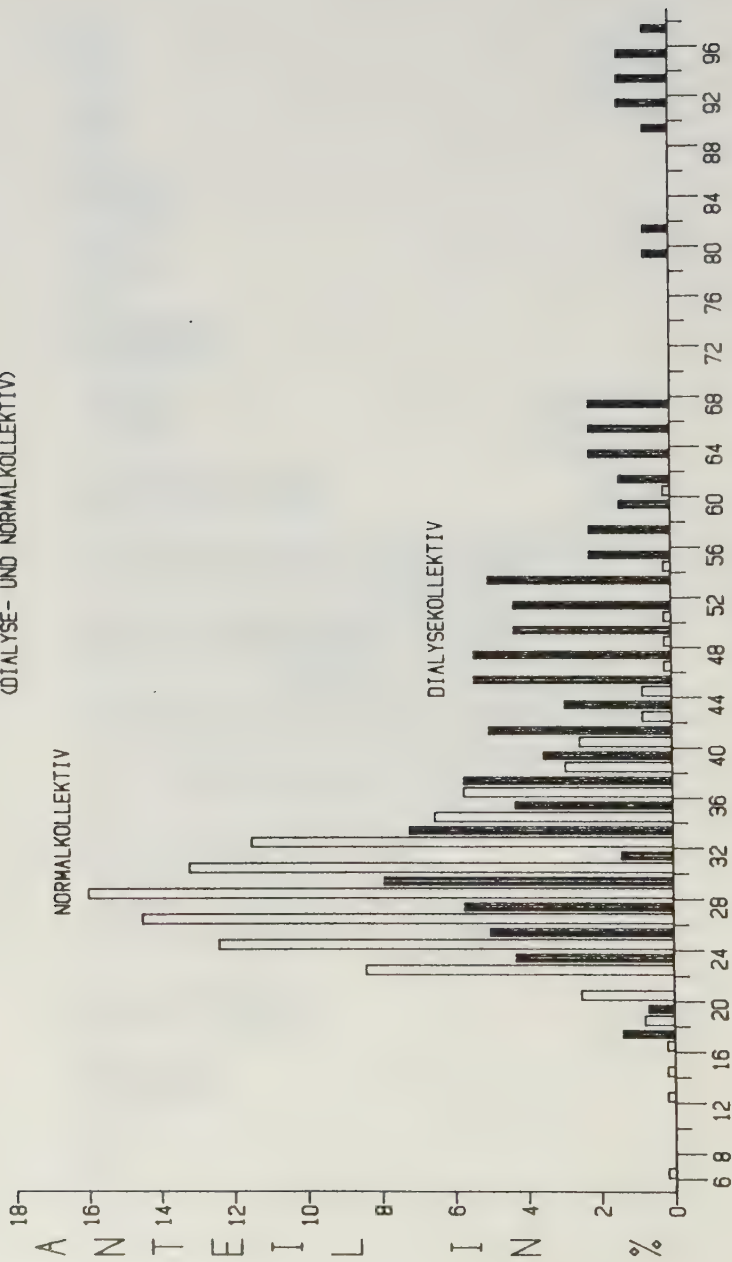
FIG. 3
(STEINKOLLEKTIV)



APRT-AKTIVITÄT (nmol/mg Prot./h)

FIG. 4

(DIALYSE- UND NORMALKOLLEKTIV)



APRT-AKTIVITÄT (nmol/mg/Prot./h)

FIG. 5

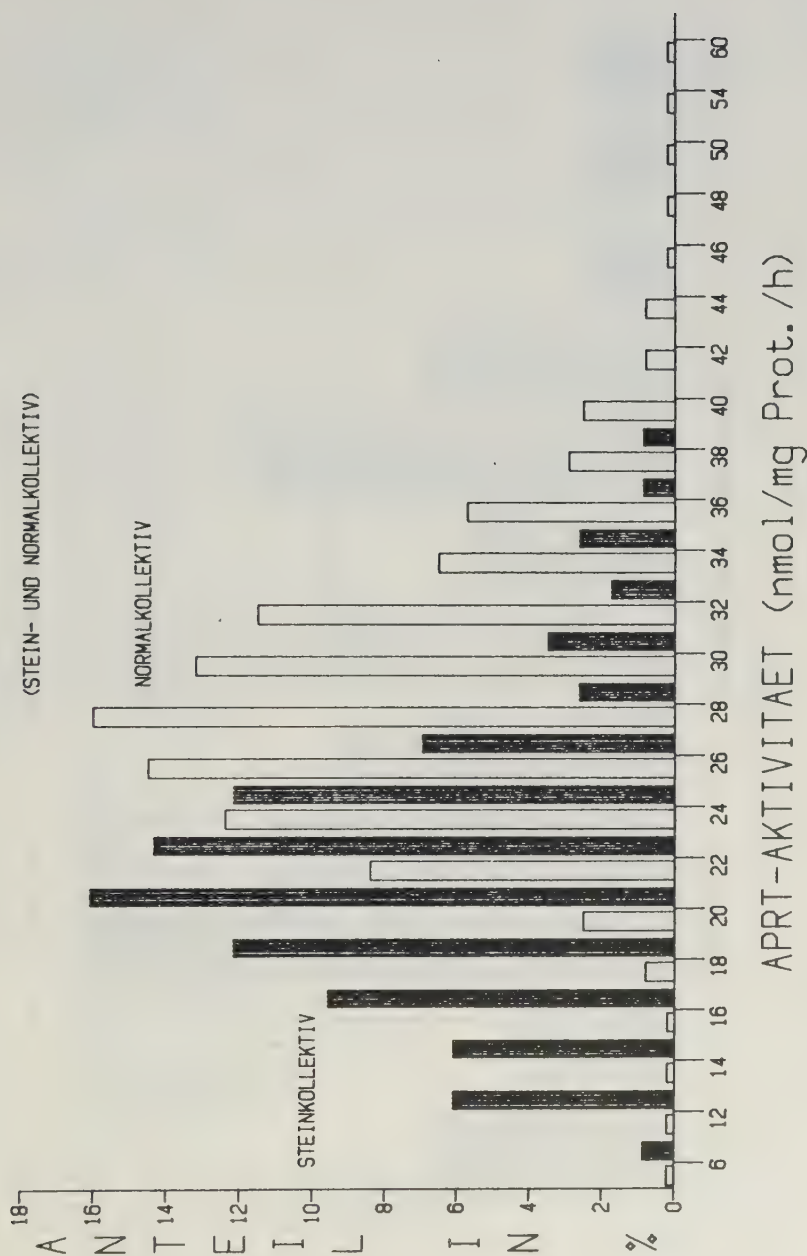


FIG. 6

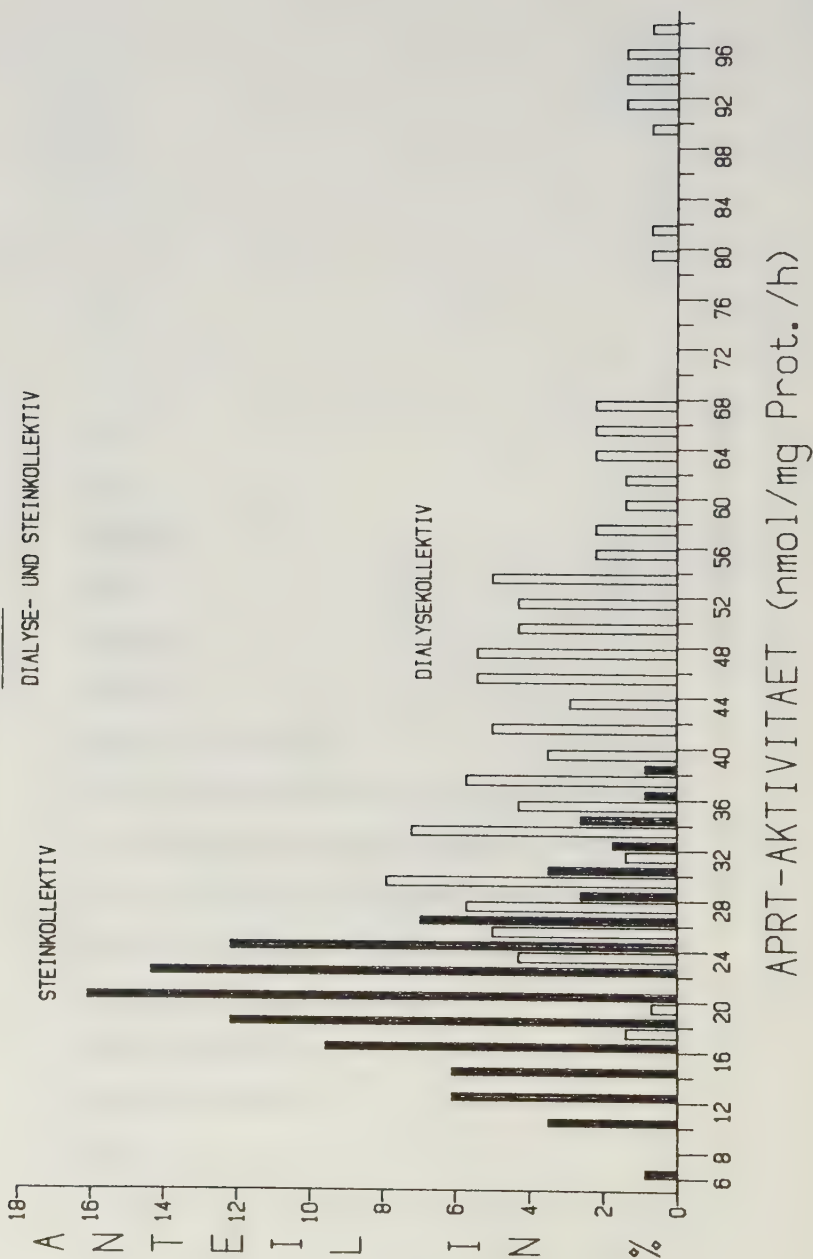


FIG. 7

GEMISCHTE STEINE

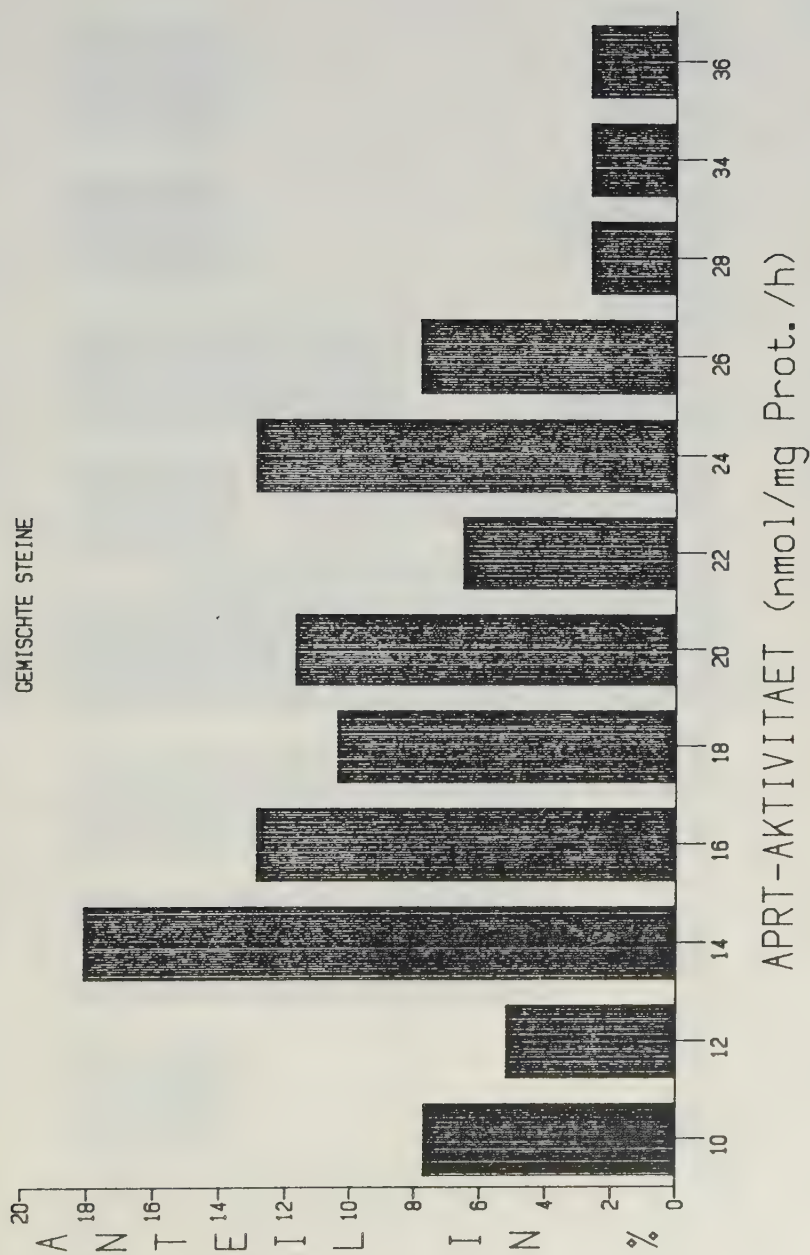


FIG. 8

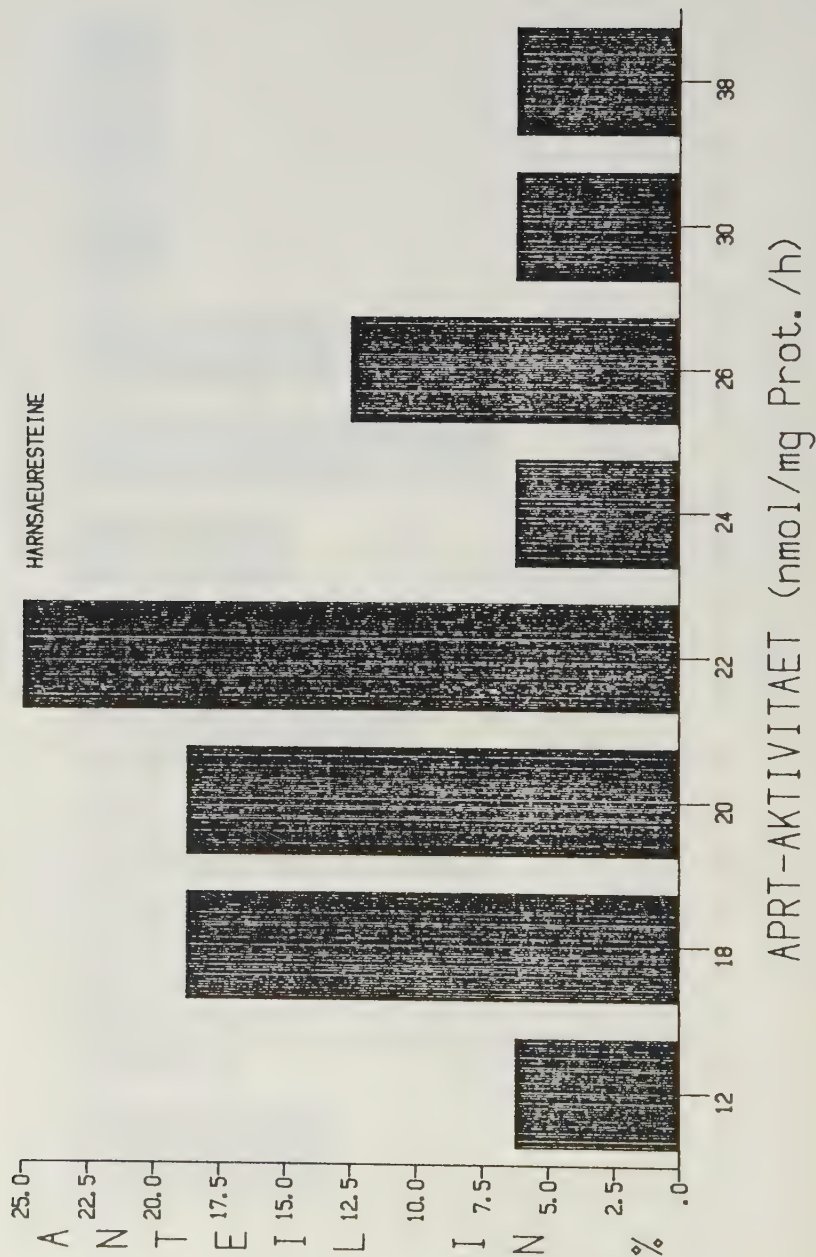


FIG. 9

CALCIUMSTEINE

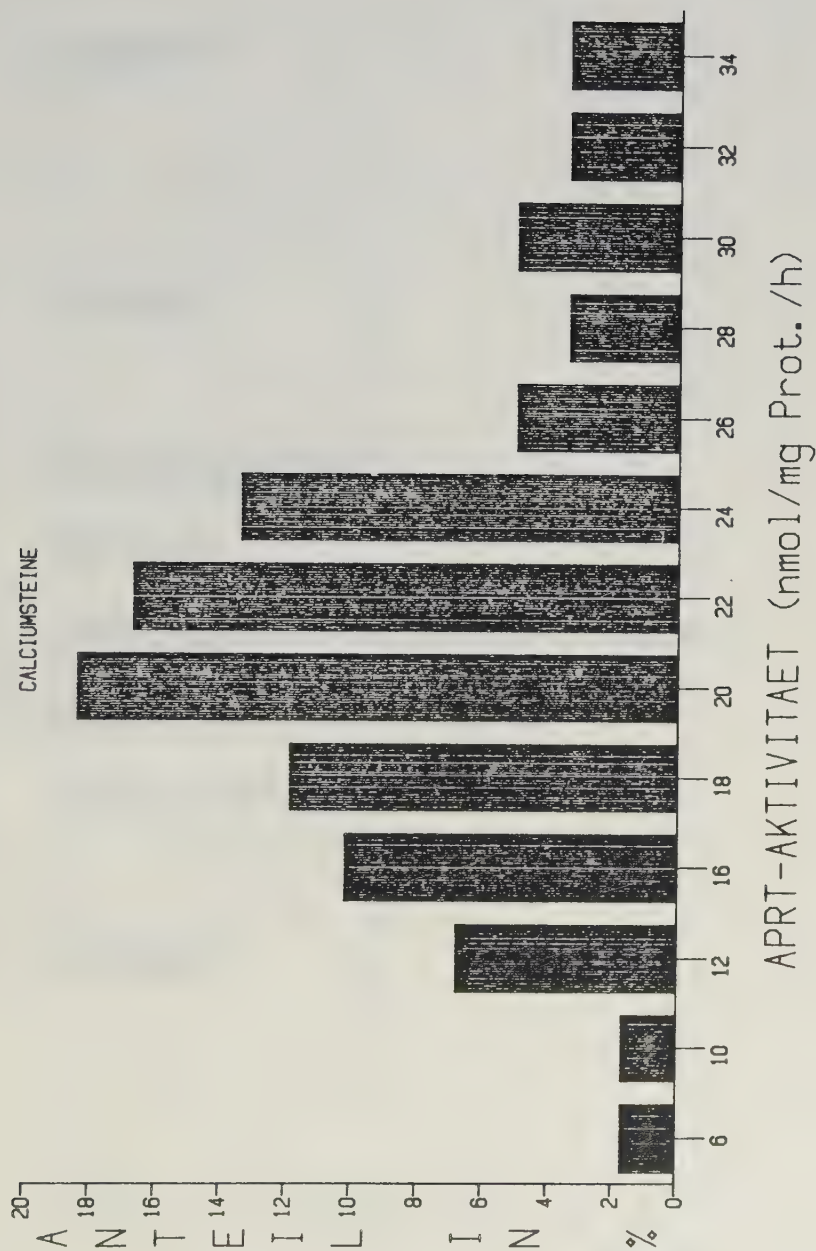
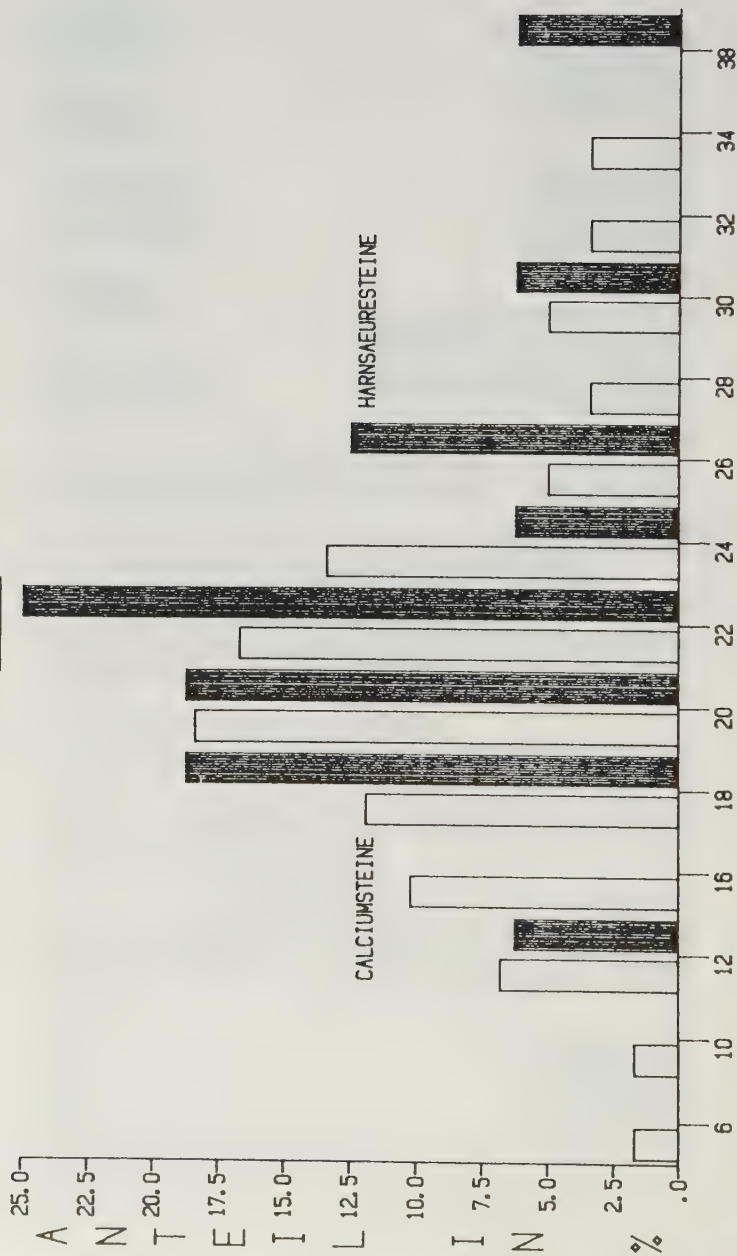


FIG. 10



APRT-AKTIVITAET (nmol/mg Prot./h)

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

α :	Signifikanzniveau
AMP :	Adenosinmonophosphat
APRT :	Adeninphosphoribosyltransferase
DHA :	Dihydroxyadenin
GMP :	Guaninmonophosphat
HA :	Hyperabsorber
HC :	Hypercalciurie
HGPRT :	Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase
HPLC :	High pressure liquid chromatography
HU :	Hyperurikosurie
IMP :	Inosinmonophosphat
$\emptyset$ k :	nicht klassifizierbar
M :	Mittelwert
N :	Normalverteilung
n :	Anzahl der Fälle
p :	Wahrscheinlichkeit
PRPP :	Phosphoribosylpyrophosphat
rCl :	renal Calcium leak
rPl :	renal Phosphorus leak
s^2 :	Varianz
s :	Standardabweichung
SD :	Standardabweichung

1. Van Acker K.J.,
Simmonds H.A.,
Potter C.F.,
Cameron J.S.: Complete deficiency of adenine phosphoribosyltransferase: Report of a family.
N.Engl.J. Med., 1977, 297: 127
2. Van Acker K.J.,
Simmonds H.A.,
Potter C.F.,
Sahota A.: Inheritance of adenine phosphoribosyltransferase (APRT) deficiency in Rapoda A., Watts R.W.E., De Bruyn C.H.M.M. (eds): Purine Metabolism in Man, III, New York, Plenum Press, 1980 p.349
3. Arnold W.J.,
Kelley W.N.: Adenine phosphoribosyltransferase in: Hoffer P.A., Jones M.E. (eds): Methods in Enzymology, New York, Academic Press, 1978, p. 568
4. Albright F.,
Hennemann P.,
Benedict P.H.,
Forbes A.P.: Idiopathic hypercalcuria,
Proc. roy. Soc. Med., 1953, 46: 1077
- 4a Bakay B.,
Telfer M.A.,
Nyhan W.L.: Assay of hypoxanthine-guanine and adenine phosphoribosyl transferases: A simple screening test for the Lesch-Nyhan Syndrome and related disorders of purine metabolism.
Biochem. Med., 1969, 3: 230
5. Banholzer P.,
Gröbner W.,
Löffler W.,
Reiter S.,
Zöllner N.: Adeninephosphoribosyltransferase (APRT)-Activity in patients with nephrolithiasis or renal failure.
J.Clin.Chem. 1982, 20 (6): 345
6. Banholzer P.,
Gröbner W.: Adenine-Phosphoribosyl Transferase in: Bergmeyer H.U.
Methods of Enzymatic Analysis, Weinheim 1983
7. Barratt T.M.,
Simmonds H.A.,
Cameron J.S.,
Potter C.F.,
Rose G.A.,
Arkell D.G.,
Williams D.I.: Complete deficiency of adenine phosphoribosyltransferase. A third case presenting as renal stones in a young child.
Arch.Dis. child., 1979, 54: 25
8. Becher H.J.,
Weise H.J.,
Volkermann U.,
Schollmeyer P.: Enhanced Purine Nucleotide Synthesis in Erythrocytes of Uremic Patients.
Klin. Wochenschr., 1980, 58: 1243

- 8a Borden M.,
Nyhan W.L.,
Bakay B.:
Increased activity of adenine
phosphoribosyltransferase in
erythrocytes of normal newborn
infants.
Pediatr.Res., 1974, 8:31
9. Cartier P.,
Hamet M.:
Une nouvelle maladie métabolique:
Le déficit complet en adénine
phosphoribosyltransferase avec
lithiase de 2,8-dihydroxyadénine.
C.R. Acad. Sci, 1974, 297:883
10. Cartier P.,
Hamet M.,
Perignon J.L.:
Lithiase urinaire de l'enfant:
possibilité d'un déficit héréditaire
en adénine phosphoribosyltransferase.
Nouv. Presse Méd., 1980, 9:1767
- 10a Ceccarelli M.,
Ciampi M.L.,
Pasero G.:
Acute renal failure during adenine
therapy in Lesch-Nyhan syndrome.
In: Sperling O., De Vries A.,
Wynngaarden J.B. (eds).
Purine Metabolism in Man, 41 B,
New York, Plenum Press, 1974:671
11. Clauß,
Ebner:
Statistik, Band 1, Verlag Harri Deutsch,
Thum, 1982.
12. Clifford A.J.,
Story D.L.:
Levels of purines in food and their
metabolic effects in rats.
J. Nutr., 1975, 106:435
13. Coe F.L.:
Hyperuricosurie calcium oxalate nephrolithiasis.
Kidney Int., 1978, 13: 418
14. Daudon M.,
Protat M.M.,
Reveilland R.J.,
Jaeschke-Boyer H.:
Anwendung des Lasers für die Harnstein-
analyse.
In: Vahlensieck W., Gasser G. (Hrs.)
Fortschritte der Urologie und Nephrologie,
1981, Bd. 17 : 311 -321
15. Dean B.,

Simmonds H.A.,
Sahota A.,
Van Acker K.J.:
Adenine and adenosine metabolism in intact
erythrocytes deficient in adenosine mono-
phosphate pyrophosphate phosphoribosyl-
transferase: A study of two families.
Clin. Sci. Mol. Med., 1978, 55: 407
16. Debray H.,
Cartier P.,
Temstet A.,
Cendron J.:
Child's urinary lithiasis revealing a complete
deficit in adenine phosphoribosyltransferase.
Pediatr. Res., 1976, 10: 762
17. Delbarre F.,
Auscher C.,
Amor B.,
de Gery A.,
Cartier P.,
Hamet M.:
Gout with adenine phosphoribosyltransferase
deficiency.
Biomed. 1974, 21: 82

18. Demus A.,
Kaiser W.,
Schaub J.:
The Lesch-Nyhan Syndrome.
Metabolic studies during administration
of adenine.
Eur.J. Pediatr., 1973, 114:119
19. Emmerson B.T.,
Johnson L.A.,
Gordon R.B.:
Incidence of APRT-deficiency.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem.,
1976, 14: 285
20. Ericson A.,
Groth T.,
Niklasson F.,
De Verdier C.H.:
Plasma concentration and renal excretion
of adenine and 2,8-dihydroxyadenine
after administration of adenine in man.
Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1980, 40: 1
21. Falk J.S.,
Lindblac G.T.O.,
Westman B.J.M.:
Histopathological studies on kidneys
from patients treated with large amounts
of blood preserved with ACD-adenine.
Transfusion, 1982, 12: 376
- 21a Fellström B.,
Backman U.,
Danielson B.G.,
Holmgren K.,
Ljunghall S.,
Sikström B:
Inhibitor activity of human urine on calcium
oxalate crystal growth: effects of sodium
urate and uric acid.
Clinical Science, 1982, 62: 509 - 514
22. Fox I.H.,
Lacroix S.,
Planet G.,
Moore M.:
Partial Deficiency of Adenine Phosphoribosyl-
transferase in Man.
Medicine, 1977, 56: 515
23. Fox I.H.,
Meade J.C.,
Kelley W.N.:
Adenine phosphoribosyltransferase
deficiency in man. Report of a second
family.
Am. J. Med., 1973, 55: 614
24. Gault M.H.,
Simmonds H.A.,
Snedden W.,
Dow D.,
Churchill D.N.,
Penney H.:
Urolithiasis due to 2,8-Dihydroxyadenine
in an Adult.
N. Engl. J. Med., 1981, 305: 1570 - 1572
- 24a Haagen K.,
Seifert H.G.:
Methoden der Statistik für Psychologen. Bd.2
Kohlhammer, Stuttgart 1979
25. Hamet M.:
Le Microdosage de l'adénine par une methode
de cinétique enzymatique - dilution isotopique.
Ann. Biol. Clin., 1975, 33 131
26. Hamet M.,
Cartier P.,
Vincens A.:
Complete adenine phosphoribosyltransferase
(APRT) deficiency in two siblings: Report of
a new case.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1979, 17: 412
27. Hegemann M.,
Pfab R.,
Böttger I.,
Pullmann F.,
Schütz W.:
Normalwerte beim oralen Calciumbelastungstest
nach PAK und ihre Bedeutung für die Differential-
diagnose der Calcium-Urolithiasis.
Fortschr. d. Urologie u. Nephrologie,
1982, 20: 286

28. Holden J.A.,
Meredith G.S.,
Kelley W.N.:
Human adenine phosphoribosyltransferase
affinity, purification, subunit structure,
amino acid composition and peptide mapping.
J. Biol. Chem., 1979, 254: 6951
29. Janne J.,
Poso H.,
Raina A.:
Polyamines in rapid growth and cancer.
Biochem. Biophys. Acta., 1978, 473: 241
30. Johnson L.A.,
Gordon R.B.,
Emmerson B.T.:
Adenine phosphoribosyltransferase:
a simple spectrophotometric assay and the
incidence of mutation in the normal population.
Biochem. Genet., 1977, 15: 256
31. Joost J.,
Doppler W.:
The 2,8 dihydroxyadenine stone in childhood.
Urology, 1982, 67: 222
- 31a Kelly W.N.:
Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl-
transferase deficiency in the Lesch-
Nyhan syndrome and gout.
Fed. Proc., 1968, 27: 1047
32. Kelley W.N.,
Levy R.I.,
Rosenbloom F.M.,
Henderson J.F.,
Seegmiller J.E.:
Adenine phosphoribosyltransferase deficiency.
A previously undescribed genetic defect in man.
J. Clin. Invest., 1968, 42: 2281
33. Kelley W.S.,
Rosenbloom F.M.,
Henderson J.F.,
Seegmiller J.E.:
A specific enzyme defect in gout associated
with overproduction of uric acid.
Proc. Nat. Acad. Sci., 1967, 57: 1735
34. Kelley W.N.,
Wyngaarden J.B.:
Effect of dietary purine restriction on urinary
excretion of ultraviolet absorbing compounds.
Clin. Chem., 1970, 16: 707
35. Klain G.J.,
Meikle A.W.,
Sullivan F.J.,
Rogers G.B.:
Metabolic effects of dietary adenine on kidney
of rats.
Fed. Proc., 1970, 29: 366
- 35a Kleiter, E.V.:
Micro-Stat, Kiel 1982
- 35b Kreyzig, E.:
Statistische Methoden und ihre Anwendungen,
Vandenhoeck u. Rupprecht, Göttingen 1968
36. Kuroda M.,
Miki T.,
Kiyohara H.,
Usami M.,
Nakamura T.,
Kotake T.,
Takemoto M.,
Sonoda T.:
Urolithiasis composed of 2,8-dihydroxyadenine
due to partial deficiency of adenine phospho-
ribosyltransferase; report of a case (Japanese).
Jap. J. Urol., 1980, 71: 283
- 36a Lienert G.A.:
Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik,
dargestellt an Beispielen aus der psycholo-
gischen, medizinischen und biologischen
Forschung.
Hain, Meisenheim 1962

37. Lindblad G.,
Jansson G.,
Falk J.:
Adenine toxicity: A three-week intra-
venous study in dogs.
Acta. Pharmacol. toxicol., 1973, 32: 246
38. Lowry O.H.,
Rosebrough N.J.,
Farr A.L.,
Randall R.J.:
Protein measurement with the Folin phenol
reagent.
J. Biol. Chem. 1951, 193: 265
- 38a Mansell M.A.,
Allsop J.,
North M.E.,
Simmonds R.J.,
Harkness R.A.,
Watts W.E.:
Effect of renal failure on erythrocyte
purine nucleotide, nucleoside and base
concentrations and some related enzyme
activities.
Clinical Science, 1981, 61: 757
39. Mills C.G.,
Schmalstieg F.C.,
Trimmer K.B.,
Goldmann A.S.,
Goldblum R.M.:
Purine Metabolism in adenosine deaminase
deficiency.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1976, 73: 2876
40. Minkowski O.:
Untersuchung zur Physiologie und Pathologie
der Harnsäure bei Säugetieren.
Arch. Exp. Pathol. Pharmacol., 1898, 41: 375
41. Murken J.D.,
Cleve H.:
Humangenetik.
Stuttgart, 1979
- 41b Murray A.W.,
Wong P.C.L.:
The Activities and Kinetic Properties of
Purine Phosphoribosyltransferase in
Developing Mouse Liver
Biochem. J., 1967, 104: 675
42. Noro T.,
Nobuhara R.,
Ogiwara M.,
Tsuyuki K.,
Miyajima T.,
Matsuoka T.:
A case of 2,8 dihydroxyadenine lithiasis in
a child who had repeated symptoms of renal
insufficiency.
Clin. Urol. (Jpn.) 1980, 34: 271
abgedruckt in Deu.Med.Wo. 1982, 107 (49): 1887
43. Pak C.Y.C.,
Kaplan R.,
Bone H.,
Townsend I.,
Waters O.:
A simple test for the diagnosis of absorptive,
resorptive and renal hypercalciurias.
N.Engl. J. Med., 1975, 292: 497
44. Pak C.Y.C.,
Britton F.,
Peterson R.,
Ward D.,
Northcutt C.,
Breslau N.A.,
Mc Guire J.,
Sakhaee K.,
Bush S.,
Nicar M.,
Normann D.A.,
Peters P.:
Ambulatory Evaluation of Nephrolithiasis.
Amer. J. of Med., 1980, 69: 19

45. Peck C.C.,
Baileg F.J.,
Moore G.L.: Enhanced solubility of 2,8-dihydroxyadenine (DOA) in human urine. Transfusion, 1977, 17: 383
46. Pfanzagl J.: Allgemeine Methodenlehre der Statistik, Bd. 1; 2: Höhere Methoden unter besonderer Berücksichtigung der Anwendung. De Gruyter, Berlin 1962
47. Reveilland R.J.,
Dandron M.,
Protat M.F.,
Vincens A.,
Graveleau D.: Lithiase 2,8-dihydroxyadéninique: un nouveau cas dépisté par analyse infra-rouge. Nouv. Presse Med., 1979, 8: 2965
48. Sakamoto K.,
Fujisawa Y.,
Ohmori A.,
Minoda K.,
Yamanaka H.,
Nishioka K.: Dihydroxyadenine Urolithiasis in Children with Partial Deficiency of Adenine Phosphoribosyltransferase. Urol. int., 1981, 36: 274
49. Schabel F.,
Doppler W.,
Hirsch-Kauffmann M. et al.: Hereditary deficiency of adenine phosphoribosyl transferase. Paediatr. Paedol., 1980, 15:233
50. Scholz D.,
Schwille P.O.,
Sigel A.: Zur metabolischen Klassifikation und Metaphylaxe der häufigsten Lithiasisformen. Urologe A, 1980, 19: 202
51. Seegmiller J.E.: Genetic defects in human purine metabolism leading to urolithiasis. Fleisch H., Robertson W.G., Smith L.H., Vahlensieck W. (eds). In: Urolithiasis Research. New York: Plenum press, 1976: 147
- 51a. Seegmiller J.E.,
Rosenbloom F.M.,
Kelley W.N.: An Enzyme defect associated with a sex-linked human neurological disorder and excessive purine sythesis. Science, 1967, 155: 1682
52. Shields C.E.,
Loaps. H.,
Birndorf N.I.: Investigation of nephrotoxic effects of adenine and its metabolic product 2,8-dioxyadenine on primates (Macaca Irus). J. Clin. Pharmacol., 1970, 10: 316
53. Simmonds H.A.: 2,8 Dihydroxyadeninuria - or when is a uric acid stone not a uric acid stone ? Clin. Nephrol., 1979, 12: 195
54. Simmonds H.A.,
van Acker K.J.: Adenine phosphoribosyltransferase deficiency: 2,8-dihydroxadenine lithiasis. In: Stanburg J.B., Wyngarden J.B., Fredrickson D.S. (eds): The Metabolic Basis of Inherited Disease. Mc Graw Hill, New York, 1982, p. 1144 - 1156

55. Simmonds H.A.,
Van Acker K.J.,
Cameron J.S.,
Mc Burneg A.:
Purine excretion in complete adenine
phosphoribosyltransferase deficiency.
In: M.M. Müller, E. Kaiser, J.E. Seeg-
miller (eds): Purine Metabolism in Man II.
New York: Plenum Press, 1977, p. 304
56. Simmonds H.A.,
Van Acker K.J.,
Cameron J.S.,
Snedden W.:
A new cause of urinary calculi:
2,8-dihydroxyadenine stones in supposed
"uric acid" crystalluria.
In: Fleisch H., Robertson W.G., Smith L.H.,
Vahlensieck W.; Urolithiasis Research.
Plenum Press, New York, 1976: 517
57. Simmonds H.A.,
Barratt T.M.,
Webster D.R.,
Sahota A.,
Van Acker K.J.,
Cameron J.S.,
Dillon M.J.:
Spectrum of 2,8-dihydroxyadenine urolithiasis
in complete APRT deficiency.
Rapado A., Watts R.W.E., De Bruyn C.H.,
M.M. (eds). In: Purine Metabolism in Man III,
122 A, New York. Plenum Press 1980: 337
58. Simmonds H.A.,
Cameron J.S.,
Dillon M.J.,
Barratt T.M.,
Van Acker K.J.:
"Uric acid" stones in children - problems
of diagnosis and treatment in a new defect -
adenine phosphoribosyltransferase deficiency.
In: Proceedings of Workshop on Uric Acid
Lithiasis, Tel. Aviv, 1980.
59. Simmonds H.A.,
Sahota A.,
Potter C.F.,
Cameron J.S.:
Purine Metabolism and immunodeficiency:
urinary purine excretion as a diagnostic
screening test in adenosine deaminase and
purine nucleoside phosphorylase deficiency.
Clin. Sci. and Molec. Med., 1978, 54: 579
60. Stern I.J.,
Cosmas F.,
Garvin P.J.:
The occurrence and binding of 2,8-dioxy-
adenine in plasma.
Transfusion, 1972, 13: 382
61. Stevens W.J.,
Peetermans M.E.,
Van Acker K.J.:
Immunological investigation in adenine
phosphoribosyltransferase (APRT) deficiency.
Clin. Exp. Immunol., 1979, 36: 364
- 61a Sweetmann L.,
Nyhan W.L.:
Further studies of the enzyme composition
of mutant cells in X-linked uric aciduria
Arch.Int.Med., 1972, 130: 214
62. Takeuchi H.,
Tomoyoshi T.,
Takahashi Y.,
Yoshida O.,
Uchida M.,
Nakamura T.:
2,8 Dihydroxy adenine urolithiasis associated
with incomplete adenine phosphoribosyltrans-
ferase deficiency.
Acta urol. jap., 1981, 27: 189

63. Takeuchi H.,
Uchida M.,
Nakamura T.:
An interesting case of a urinary tract
stone in a child (2,8-dihydroxyadenine).
Uric Acid Res., 1980, 4: 113
64. Thomas C.B.,
Arnold W.J.,
Kelley W.N.:
Human Adenine phosphoribosyltransferease.
J. Biol. Chem., 1973, 248: 2529
65. De Verdier C.H.,
Ericson A.,
Niklasson F.,
Westman M.:
Adenine metabolism in man. 1.
After intravenous and peroral administration.
Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1977, 37: 567
66. Wyngaarden J.B.,
Dunn J.T.:
8-hydroxyadenine as the metabolic inter-
mediate in the oxidation of adenine to
2,8-dihydroxyadenine by xanthine oxidase.
Arch.Biochem.Biophys., 1957, 70: 150

ZUSAMMENFASSUNG

Durch APRT-Defekte induzierte Dihydroxyadenin-Ablagerungen im Interstitium oder Tubuluslumen der Niere können Nephropathien hervorrufen, die von der unkomplizierten Urolithiasis bis zum chronischen Nierenversagen reichen. Die Häufigkeit von APRT-Defekten bei solchen Nephropathien wurde bisher noch nicht untersucht.

In die vorliegende Arbeit wurden drei Patientenkollektive einbezogen: 139 dialysepflichtige Patienten mit chronischem Nierenversagen, 118 Urolithiasispatienten und eine Kontrollgruppe mit 524 nicht ausgewählten Patienten der medizinischen Poliklinik.

Ein homozygoter Träger des APRT-Defektes konnte nicht gefunden werden, je ein vermutlich heterozygoten Individuum findet sich in der Kontroll- und in der Urolithiasisgruppe.

Die Suche nach heterozygoten Trägern des Defektes gestaltete sich in der Dialyse- und in der Urolithiasisgruppe schwierig, da diese Gruppen möglicherweise eigene - von der Kontrollgruppe verschiedene - Standards für die "normale" APRT-Aktivität aufweisen.

Die mikroradiochemisch in den Erythrocytenlysaten gemessene APRT-Aktivität liegt in der Dialysegruppe deutlich über, in der Urolithiasisgruppe deutlich unter dem Wert der Kontrollgruppe. Die Differenzen sind statistisch hoch signifikant ($p < 0,001$).

Innerhalb der Urolithiasisgruppe wurden keine statistisch signifikanten Differenzen in bezug auf den Steintyp (Harnsäuresteine: $n = 16$, Calciumsteine: $n = 60$, Cystinsteine: $n = 3$, nicht identifizierte Steine: $n = 39$) und in bezug auf die verschiedenen metabolischen Untergruppen der Calciumurolithiasis gefunden. Auch eine Korrelation der APRT-Aktivität mit den bei Urolithiasis üblicherweise tangierten Laborparametern konnte nicht festgestellt werden.

Die Ergebnisse sprechen dafür, daß APRT-Defekte auch bei Individuen mit Nierenversagen oder Urolithiasis nicht sehr häufig sind. Die von der üblichen Verteilung abweichende Verteilung der APRT-Aktivität bei diesen Patientengruppen sollte noch näher untersucht werden, ein schlüssiges Erklärungsmodell wäre anzustreben. Bei den Dialysepatienten wäre dabei insbesondere an die verjüngte Erythrocytenpopulation und die erhöhten ATP-Spiegel zu denken, bei den Urolithiasispatienten erscheint die APRT-Aktivitätsminderung bisher als unspezifischer Risikofaktor. Die nähere Untersuchung exemplarischer Fälle könnte hier vielleicht weiteren Aufschluß bringen.

LEBENS LAUF

Name:	Aurel Stenzel
20. Oktober 1949	geboren in Lindenberg/Allgäu Eltern: Willi Stenzel (selbständiger Kaufmann) Anna Stenzel, geb. Zinth
1955 - 1960	Grundschule in Lindenberg/Allgäu
1960 - 1969	Mathematisch-Naturwissenschaftliches Gymnasium in Lindenberg/Allgäu
1969 - 1975	Studium der Volkswirtschaftslehre an der Universität Regensburg; Abschluß als Diplom-Volkswirt
1976	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Universität Regensburg
25. August 1978	Ärztliche Vorprüfung; Wechsel an die Universität München
30. August 1979	Erstes Staatsexamen in Medizin
19. März 1982	Zweites Staatsexamen in Medizin
17. Januar 1983	Abschluß einer Dissertation in Volkswirt- schaft mit "sehr gut", Promotion zum Dr.rer.pc
18. April 1983	Approbation als Arzt nach dem dritten Staatsexamen im März 1983 Anschließend Praktisches Jahr am Klinikum rechts der Isar und seit 1. Januar 1984 Assistenzarzt in der Urologischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Landshut, Lehrkrankenhaus der Universität München

